

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE EM BATELADA OU FLUXO CONTÍNUO DE
COMPOSTOS N- E O-HETEROCÍCLICOS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A ENZIMA
ACETILCOLINESTERASE**

Júlia Lammoglia Monteiro*

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de DOUTORA EM
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA
ORGÂNICA.

Orientadora: Profa. Dra. Arlene G. Corrêa

*** bolsista FAPESP**

**São Carlos - SP
2017**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Júlia Lammoglia Montello, realizada em 28/07/2017:

Prof. Dra. Arlene Concelvea Corrêa
UFSCar

Profa. Dra. Patricia Tamburusi Baraldi
Lihhs

Prof. Dr. Timothy John Brocksom
UFSCar

Prof. Dr. Marco Antonio Barbosa Ferreira
UFSCar

Prof. Dr. Flávio de Silva Emery
=CFRP/USP

*Nothing in life is to be feared, it is only to be understood.
Now is the time to understand more, so that we may fear less.*
(Marie Curie)

Agradecimentos

À minha família, em especial aos meus pais Carla e Francisco, que me apoiaram incondicionalmente em todas minhas decisões. Obrigada pelo carinho, dedicação e pelos valores ensinados, os quais me permitiram alcançar meus sonhos e objetivos.

Ao meu namorado Lucas, que me acompanhou nessa trajetória de 5 anos de trabalho, me apoiando e incentivando, até nos momentos mais delicados. Obrigada pela compreensão, paciência e carinho.

À Profa. Dra. Arlene G. Corrêa por todos esses anos de convivência, orientação, ensinamentos e confiança. Obrigada pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa por oito anos e iniciar minha formação científica. Durante esse período, tive como espelho seu profissionalismo e dedicação.

Aos Professores Dr. Márcio Weber Paixão e Dr. Ricardo Samuel Schwab pelo auxílio no dia-a-dia do laboratório e pelas discussões que muito acrescentaram na execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Quezia B. Cass pela colaboração com os ensaios biológicos. À Dra. Kenia L. Vanzolini pelos ensinamentos e por toda ajuda na execução dos ensaios. À Dra. Bianca Rebelo e à Adrina Santos pela realização dos últimos ensaios enzimáticos.

Ao Prof. Dr. C. Oliver Kappe por ter me aceitado em seu grupo de pesquisa, onde tive a oportunidade de entrar em contato com reações orgânicas em fluxo contínuo. Ao Bartholomäeus Pieber e ao Bernhard Gutmann, pelos ensinamentos científicos e pelos momentos de descontração fora do laboratório.

Aos amigos do laboratório, que contribuíram de forma teórica ou prática para o desenvolvimento desse trabalho. Ao Dr. Alexander F. de la Torre, que teve papel fundamental no planejamento e elaboração de uma das partes dessa tese. Aos que passaram pelo laboratório durante esses oito anos, em especial, ao Rodrigo, Lucas Curcino, Carolina, Deborah, Sandrina, Natalia e Floyd, pelas discussões científicas que foram relevantes em diversos momentos.

Aos membros da banca que se disponibilizaram em contribuir com esse trabalho.

Ao corpo docente e técnico administrativo do DQ.

À FAPESP pela bolsa concedida (2012/07284-1).

Lista de abreviação

ACh: acetilcolina

AChE: enzima acetilcolinesterase

AChE-*ee*: enzima acetilcolinesterase de peixe elétrico (*Electrophorus electricus*)

AChE-*hu*: enzima acetilcolinesterase de eritrócitos humanos

AChEI: inibidores da enzima acetilcolinesterase

ap.d.: dubleto aparente

APP: proteína precursora do peptídeo amilóide

Boc: *tert*-butilcarbamato

BzCl: cloreto de benzoíla

CG-EM: cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

d.: dubleto

DA: doença de Alzheimer

DBU: 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undec-7-eno

DCM: diclorometano

DIBAL: hidreto de diisobutil alumínio

DMAP: 4-dimetilaminopiridina

DMF: dimetilformamida

DMH: dimetilhidantoína

DMSO-*d*₆: dimetil sulfóxido deuterado

EC₅₀: concentração mínima do fármaco para induzir 50% de seu efeito máximo

Et₃N: trietilamina

Fator E: fator ambiental

FDA: *food and drug administration*

FEP: etileno propileno fluorado

Glu: glutamato

GSK: GlaxoSmithKline

GVL: γ -valerolactona

HFIP: hexafluoroisopropanol

His: histidina

HRMS: massas de alta resolução

IC₅₀: concentração mínima para inibição 50% da enzima

IFA: ingrediente farmacêutico ativo
IMER-AChE: biorreator com a enzima acetilcolinesterase de peixe elétrico imobilizada
IV: infravermelho
J: constante de acoplamento
K_M: constante de Michaelis-Menten
LC-MS: cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
LUMO: orbital desocupado de menor energia
m: multiplete
MBH: reação de Morita-Baylis-Hillman
MCRs: reações multicomponentes
MeCN: acetonitrila
Me-THF: 2-metil tetraidrofunano
MO: micro-ondas
Na₂S₂O₃: triftinato de sódio
NaCF₃SO₂: trifluorometanosulfinato de sódio
n-BuLi: *n*-butil lítio
nm: nanômetros
PFA: perfluoralcoxi alcano
PhCO₂H: ácido benzóico
PMI: Intensidade mássica do processo
ppm: parte por milhão
PTFE: Politetrafluoretileno
q: quadruplete
rd: relação diastereoisomérica
RME: Eficiência mássica da reação
RMN ¹³C: ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN 1D: ressonância magnética nuclear em uma dimensão
RMN ¹H: ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN 2D: ressonância magnética nuclear em duas dimensões
RSSR: ácido (5,5-ditiobis[2-nitrobenzóico]), reagente de Ellman
s: singleto
Ser: serina
s/: singleto largo
t: tripleto

ta: temperatura ambiente

TBAF: fluoreto de tetrabutílamônio

TBHP: *tert*-butil hidroperóxido

TFA: ácido trifluoroacético

TFE: trifluoroetanol

THF: tetraidrofurano

TLC: cromatografia de camada fina

tr: tempo de residência

UPC²: cromatografia de Ultrapformance convergente

UV-vis: ultravioleta visível

δ : deslocamento químico

Lista de Tabelas

TABELA 3.1: Rendimentos obtidos na síntese das 4-hidroxycumarinas.....	44
TABELA 3.2: Dados espectroscópicos do composto 3b	45
TABELA 3.3: Organocatalisadores avaliados na reação modelo para a síntese das piranocumarinas.....	48
TABELA 3.4: Otimização das condições reacionais para a síntese das piranocumarinas.....	49
TABELA 3.5: Piranocumarinas sintetizadas através da reação de Michael organocatalisada	50
TABELA 3.6: Comparação dos resultados obtidos na síntese das piranocumarinas em micro-ondas e com aquecimento convencional.....	53
TABELA 3.7: Dados espectroscópicos do composto 4a	55
TABELA 3.8: Síntese das piperidinocumarinas através da reação sequencial de Michael/Ugi-Smiles com piranocumarinas.....	57
TABELA 3.9: Dados espectroscópicos do composto 6a	59
TABELA 3.10: Condições de desproteção do Boc testadas <i>one-pot</i>	65
TABELA 3.11: Otimização dos solventes na reação de aziridinação	66
TABELA 3.12: Síntese assimétrica das 2-formil aziridinas	67
TABELA 3.13: Condições reacionais testadas para a síntese das 2-formil aziridinas derivadas de aldeídos α,β -insaturados aromáticos.	69
TABELA 3.14: Síntese sequencial para obtenção das hidantoínas reduzidas	75
TABELA 3.15: Hidantoínas sintetizadas através de aminoácidos naturais	77
TABELA 3.16: Condições reacionais testadas para a reação de O-alkilação da cumarina 18	79
TABELA 3.17: Síntese das hidantoínas a partir da reação de Bucherer-Bergs via aquecimento convencional, seguida da reação de N-alkilação.....	80
TABELA 3.18: Rendimentos obtidos na reação de O-alkilação	81
TABELA 3.19: Dados espectroscópicos do composto 22a	82
TABELA 3.20: Otimização da síntese das hidantoínas em fluxo contínuo	85
TABELA 3.21: Comparação da síntese de hidantoínas em micro-ondas e em fluxo contínuo.....	86
TABELA 3.22: Escopo da reação de Bucherer-Bergs em fluxo contínuo.....	88
TABELA 3.23: Tentativa de obtenção dos sais de derivados da hidantoína 20a com brometo de (2-bromoetil)trimetilamônio.	90
TABELA 3.24: Otimização da reação de monoalkilação para formação das hidantoínas N(3) substituídas.....	91
TABELA 3.25: Escopo reacional da síntese das hidantoínas N(3)-substituídas.....	92
TABELA 3.26: Otimização da reação do tipo Minisci em fluxo contínuo	98
TABELA 3.27: Otimização do tempo de residência com trifluor-iodometano	100
TABELA 3.28: Otimização do tempo de residência com o nonafluoro-1-iodobutano	101
TABELA 3.29: Otimização do tempo de residência com os microchips.	102
TABELA 3.30: Escopo da reação do tipo Minisci em fluxo contínuo	104

TABELA 3.31: Outros substratos avaliados na reação de Minisci em fluxo contínuo	106
TABELA 3.32: Escalonamento das reações em fluxo contínuo com o 1-fenil pirrol.	107
TABELA 3.33: Atividade inibitória dos compostos 17a-j , 21a-c , 22a-b , 3a-e , 4a-i , 6a-d no IMER-AChE-ee (0,125 mg/mL), a 200 μ M.....	112
TABELA 3.34: Atividade inibitória das hidantoínas e de seus sais correspondentes no IMER-AChE-ee (0,125 mg/mL), a 100 μ M.....	113

Lista de Figuras

FIGURA 1.1: Medicamentos inibidores da AChE para o tratamento da doença de Alzheimer.....	6
FIGURA 1.2: Estrutura de produtos naturais inibidores de colinesterases.....	7
FIGURA 1.3: Derivados de cumarina isolados de <i>Angelica gigas</i> Nakai e seus respectivos valores de IC ₅₀ frente a AChE.	7
FIGURA 1.4: Cumarina LSPN223	8
FIGURA 1.5: Hidantoínas inibidoras da AChE e da GSK-3β, respectivamente.	8
FIGURA 1.6: Sais derivados de indóis inibidores da AChE.....	9
FIGURA 1.7: Sal de benzofurano com atividade inibitória frente à AChE	9
FIGURA 1.8: IC ₅₀ da beberina e do híbrido fenol-beberina.	10
FIGURA 1.9: Exemplos de fármacos que contém o grupo CF ₃ em suas estruturas. 11	
FIGURA 1.10: Donepezila e seu análogo trifluorometilado.	11
FIGURA 1.11: Comparação da potência biológica do produto natural Agelastatina A e do seu análogo trifluorometilado.....	12
FIGURA 1.12: Exemplo de um instrumento de CLAE adaptado para ensaios com o biorreator de AChE.....	15
FIGURA 1.13: Estrutura geral das cumarinas.	16
FIGURA 1.14: Exemplos de fármacos derivados de cumarinas.....	16
FIGURA 1.15: Equilíbrio tautomérico do hemiacetal no anel pirano.....	21
FIGURA 1.16: Estrutura geral das hidantoínas.	21
FIGURA 1.17: Hidantoínas naturais derivadas de espécies marinhas.	22
FIGURA 1.18: Exemplos de fármacos derivados de hidantoínas.....	22
FIGURA 1.19: Possíveis estruturas tautoméricas das hidantoínas.	23
FIGURA 1.20: Diagrama simplificado dos principais componentes de um sistema em fluxo contínuo utilizado em síntese orgânica	27
FIGURA 1.21: Tipos de misturadores utilizados nas reações em fluo contínuo.	28
FIGURA 1.22: Exemplos de reatores comerciais utilizados em fluxo contínuo. A: reator tubular, B: microchip, C: reator para fase sólida.....	28
FIGURA 1.23: Reguladores de pressão utilizados em síntese contínua. A: cartuchos de pressões pré-definidas da index-hs, B: regulador de pressão ajustável da Swagelok.....	30
FIGURA 1.24: Diagrama representativo das principais operações unitárias da síntese “end-to-end” em fluxo contínuo do fármaco Aliskiren, desenvolvido pela Novartis. R: reator, S: separação, Cr: cristalização, W: filtração/lavagem, D: diluição, E: extrusão, MD: moldagem.	34
FIGURA 3.1: Nova classe de organocatalisadores derivados da prolina	46
FIGURA 3.2: Cumarina LSPN223 e análogo contendo hidantoína.....	60
FIGURA 3.3: Estereosseletividade da auto-condensação das 2-formil aziridinas. ...	61
FIGURA 3.4: Deslocamentos químicos, em ppm, dos hidrogênios característicos das 2-formil aziridinas <i>N</i> -Boc protegidas e dos dímeros de amino aldeídos.....	73
FIGURA 3.5: Imagem das reações testes em micro-ondas.....	86
FIGURA 3.6: Microchips usados na reação de funcionalização C-H. A, B: Microchip Chemtrix; C: Microchip Uniqsis.....	101

FIGURA 3.7: Cromatogramas obtidos dos brutos reacionais das reações a partir de 10 mmol de 1-fenil pirrol (t.r. 6,4 min); t.r. 25e = 9,9 min t.r. 25f = 7,7 min.....	108
FIGURA 3.8: Reções envolvidas no protocolo de imobilização em capilar de sílica fundida.....	109
FIGURA 3.9: Ilustração do sistema LC-MS utilizado nos ensaios enzimáticos.	110

Lista de Esquemas

ESQUEMA 1.1: Mecanismo simplificado da reação de hidrólise enzimática da ACh.	5
ESQUEMA 1.2: Reações que governam o ensaio de Ellman	13
ESQUEMA 1.3: Hidrólise do acetato de α -naftila catalisada pela AChE e a reação do α -naftol com o sal Fast Blue.	14
ESQUEMA 1.4: Metodologias empregadas para a síntese de cumarinas.	17
ESQUEMA 1.5: Síntese diastereosseletiva de piranocumarinas.....	17
ESQUEMA 1.6: Síntese de piranocumarinas através de reação de cicloadição formal (3+3).	18
ESQUEMA 1.7: Possíveis funcionalizações de compostos carbonílicos α,β -insaturados com organocatalisadores derivados da prolina.	18
ESQUEMA 1.8: Reação de Michael organocatalisada entre 4-hidroxycumarinas e cetonas α,β -insaturadas.	19
ESQUEMA 1.9: Adição de Michael da 4-hidroxycumarina a aldeídos α,β -insaturados.	20
ESQUEMA 1.10: Síntese enantiosseletiva de piranocumarinas organocatalisada por derivado de chinchona. Em destaque, a interação do organocatalisador com o substrato.....	20
ESQUEMA 1.11: Reação de Bucherer-Bergs para a síntese de hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas.	24
ESQUEMA 1.12: Reação multicomponente a partir de azidas, isocianatos e α -halo ácidos carboxílicos para a síntese de hidantoínas polissubstituídas.....	24
ESQUEMA 1.13: Síntese de hidantoínas 1,3,5-substituídas mediada por Cu.....	25
ESQUEMA 1.14: Síntese de hidantoínas 5-substituídas a partir da reação de amino-ésteres e isocianato de potássio utilizando moinho de bolas como fonte de energia.	25
ESQUEMA 1.15: Síntese de hidantoínas bicíclicas através de ciclização intramolecular mediada por selênio.	25
Esquema 1.16: Reação entre amino aldeídos e isocianatos para síntese de hidantoínas reduzidas.	26
ESQUEMA 3.1: Proposta mecanística para a formação das 4-hidroxycumarinas	44
ESQUEMA 3.2: Ciclo catalítico descrito para a formação das piranocumarinas <i>via</i> aminocatálise.....	47
ESQUEMA 3.3: Reação de Ugi e Ugi Smiles.	56
ESQUEMA 3.4: Proposta mecanística das reações do tipo Ugi-Smiles.....	58
ESQUEMA 3.5: Planejamento retrossintético para obtenção dos híbridos de hidantoínas e cumarinas	60
ESQUEMA 3.6: Equilíbrio das espécies monoméricas e diméricas dos amino-aldeídos.....	61
ESQUEMA 3.7: Rotas sintéticas descritas para obtenção dos dímeros de aziridina-aldeído.....	62
ESQUEMA 3.8: Rota sintética proposta para síntese dos dímeros de amino aldeídos.	63
ESQUEMA 3.9: Reação de aziridinação através de aldeídos α,β -insaturados e aminas protegidas.....	63

ESQUEMA 3.10: Mecanismo descrito para a síntese organocatalisada das 2-formil-aziridinas.	64
ESQUEMA 3.11: Derivatização da aziridina aldeído 11a para determinação do excesso enantiomérico através de CLAE.....	65
ESQUEMA 3.12: Mecanismo para a formação do subproduto observado pela abertura da 2-formil aziridina.	68
ESQUEMA 3.13: Possíveis mecanismos reacionais para a clivagem do Boc pelo TBAF monohidratado.....	72
ESQUEMA 3.14: Síntese dos dímeros de aziridina-aldeído.....	72
ESQUEMA 3.15: Mecanismo proposto para síntese das hidantoínas reduzidas.	74
ESQUEMA 3.16: Metodologia para obtenção da cumarina 18	78
ESQUEMA 3.17: Mecanismo reacional da Reação Bucherer-Bergs.....	80
ESQUEMA 3.18: Configuração do sistema em fluxo contínuo montado para a síntese das hidantoínas	84
ESQUEMA 3.19: Reação de trifluormetilação de arenos e heteroarenos fotocatalisada.	94
ESQUEMA 3.20: Trifluormetilação de heteroaromáticos através de substituição aromática homolítica com NaSO ₂ CF ₃	94
ESQUEMA 3.21: Reação de trifluormetilação de arenos e heteroarenos fotoinduzida.	94
ESQUEMA 3.22: Ciclo catalítico da reação de Minisci com reagente de Fenton e trifluor-iodometano.....	96

Resumo

SÍNTESE EM BATELADA OU FLUXO CONTÍNUO DE COMPOSTOS N- E O- HETEROCÍCLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

A doença de Alzheimer (DA) é a demência mais comum dos dias atuais, caracterizada pela perda progressiva da memória e deterioração das funções cognitivas. A maioria dos medicamentos aprovados para tratamento da DA são inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChEs), principal responsável pela diminuição da concentração do neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses nervosas. Neste contexto, a síntese orgânica e em especial, a síntese de compostos heterocíclicos, desempenha papel fundamental na descoberta de novos fármacos, devido às várias atividades biológicas as quais esses compostos estão relacionados. Nas últimas décadas, o uso de reatores em fluxo contínuo na síntese de compostos orgânicos tem se destacado como uma importante ferramenta no desenvolvimento de metodologias mais seguras, eficientes e sustentáveis

. Este trabalho teve como objetivo a síntese de cumarinas, hidantoínas, compostos híbridos e derivados de indóis e pirróis, visando a busca de inibidores da AChE. A síntese destes compostos foi realizada, quando possível, através de metodologias alternativas baseadas nos conceitos da química verde, visando a diminuição de etapas sintéticas, o uso de fontes alternativas de energia, como as micro-ondas, a substituição ou ausência de solventes nas misturas reacionais e o uso de reatores em fluxo contínuo.

Inicialmente, um novo método foi desenvolvido para a síntese *one-pot* de piperidinocumarinas de alta complexidade estrutural em bons rendimentos e seletividades, através de organocatálise assimétrica seguida de reação do tipo Ugi-Smiles. Uma rota sintética alternativa também foi utilizada para síntese das hidantoínas reduzidas, em três etapas reacionais, partindo-se de aziridinas assimétricas. Ainda com relação à síntese das hidantoínas, foi desenvolvida uma versão da reação de Bucherer-Bergs em fluxo contínuo para obtenção de hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas de forma mais rápida, eficiente e segura, quando comparada à metodologia convencional. Finalmente, foi desenvolvido um protocolo para

trifluormetilação de indóis e pirróis em fluxo contínuo, baseado na reação de Minisci, utilizando haletos fluorados para obtenção de potenciais compostos bioativos. A fim de colaborar com os estudos de relação estrutura-atividade das cumarinas frente à AChE, híbridos de hidantoínas e cumarinas foram sintetizados. Os compostos sintetizados foram avaliados frente à AChE e apresentaram atividades inibitórias baixas à moderadas.

Abstract

BATCH OR CONTINUOUS FLOW SYNTHESIS OF *N*- AND *O*-HETEROCYCLES AND EVALUATION OF INHIBITORY ACTIVITY AGAINST ACETHYLCHOLINESTERASE ENZYME

Alzheimer's disease (AD) is currently the most common type of dementia, characterized by a progressive loss of memory and deterioration of cognitive functions. Most approved drugs for AD treatment are acetylcholinesterase (AChE) inhibitors (AChEI), mainly responsible for reduced rates of the neurotransmitter acetylcholine (ACh) in the synaptic process. In this context, organic synthesis, specially the synthesis of heterocycle compounds, plays a key role in drug discovery, since these compounds are related to a broad spectrum of biological activity. In the last decades, the use of continuous flow reactors in organic synthesis stands out as an important tool for developing safer, more efficient and sustainable methodologies. This thesis is focused on the synthesis of coumarins, hydantoins, indoles and pyrroles derivatives, aiming to obtaining potential AChE inhibitors. When possible, the synthesis of such compounds was conducted employing alternative methodologies based on green chemistry concepts, aiming to decrease the synthetic steps, use alternative energy sources, e.g. microwave reactors, substitute toxic solvents or even apply solvent-free protocols, and use continuous flow reactors.

Initially, a new method was developed for the one-pot synthesis of high structural complexity piperidinocoumarins in good yields and selectivities, through asymmetric organocatalysis followed by an Ugi-Smiles type reaction. One alternative route was also employed for the synthesis of reduced hydantoins over three steps, starting from asymmetric aziridines. Also regarding the hydantoin's synthesis, it was developed a continuous flow protocol of the Bucherer-Bergs reaction to afford 5- and 5,5-disubstituted hydantoins faster, safer, and more efficient when compared to the conventional methodology. Finally, we developed a protocol for the trifluoromethylation of indoles and pyrroles under continuous flow conditions, based on the Minisci reaction, using perfluor halides as starting material. Aiming to collaborate with the structure-activity studies of the coumarins against AChE, hydantoin-coumarin hybrids were synthesized. All compounds were evaluated against AChE and showed low to moderate enzymatic activity.

Sumário

1	– INTRODUÇÃO.....	3
1.1	– A doença de Alzheimer	3
1.1.1	– A enzima acetilcolinesterase e o tratamento sintomático da doença de Alzheimer.....	4
1.1.2	– Heterociclos como inibidores da AChE.....	6
1.1.3	– Estratégias na busca de compostos bioativos	9
1.1.4	– Ensaio enzimáticos na descoberta de inibidores da AChE	12
1.2	– Síntese de compostos heterociclos.....	15
1.2.1	– Cumarinas e piranocumarinas	16
1.2.2	– Hidantoínas e derivados	21
1.3	- Sistemas de fluxo contínuo utilizados em síntese orgânica	26
1.3.1	– Síntese em batelada vs síntese em fluxo contínuo.....	30
1.3.2	– Aplicação da síntese em fluxo contínuo nas indústrias farmacêuticas	32
2	– OBJETIVOS.....	39
2.1	– Objetivos Gerais:.....	39
2.2	- Objetivos Específicos:.....	39
3	- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.1	- Síntese assimétrica de piranocumarinas e derivados	43
3.1.1	- Síntese das 4-hidroxi-2 <i>H</i> -cromen-2-onas.....	43
3.1.2	- Síntese assimétrica das 2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2- <i>c</i>]-cromen-5(2 <i>H</i>)-onas (4a-i)	46
3.1.3	- Funcionalização das piranocumarinas através de reações multicomponentes do tipo Ugi-Smiles.....	55
3.2	- Síntese assimétrica de hidantoínas e derivados	59
3.2.1	- Síntese das hidantoínas reduzidas.....	61
3.2.2	- Síntese de hidantoínas a partir de aminoácidos naturais	76
3.2.3	- Síntese das hidantoínas através da reação de Bucherer-Bergs.....	79
3.2.4	– Síntese dos compostos híbridos	80
3.2.5	- Síntese em fluxo contínuo das hidantoínas através da reação de Bucherer-Bergs.....	82
3.2.6	- Síntese dos derivados de hidantoínas <i>N</i> (3)-substituídos.....	89
3.3	- Trifluormetilação de heterociclos em fluxo contínuo.....	93
3.4	- Ensaio Biológicos	108

3.4.1	- Imobilização da enzima em capilar de sílica fundida	108
3.4.2	- Aspectos gerais do ensaio enzimático	109
3.4.3	- Ensaio para a determinação da porcentagem de inibição	110
4	- CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	117
5	- Procedimento Experimental	123
5.1	- Aspectos gerais.....	123
5.2	- Síntese das 4-hidroxi-cumarinas 3a-e	125
5.3	- Síntese das piranocumarinas 4a-e por metodologia convencional	126
5.4	- Síntese das piranocumarinas 4f-i via micro-ondas.....	129
5.5	- Síntese das piperidinocumarinas 6a-d	131
5.6	- Síntese das 2-formil aziridinas (11a-e).....	134
5.7	- Síntese dos dímeros de amino aldeídos (12a-b).....	137
5.8	- Síntese das hidantoínas reduzidas (15a-g).....	137
5.9	- Síntese das hidantoínas derivadas de aminoácidos naturais (17a-j)	140
5.10	- Síntese do composto 7-hidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (18).....	144
5.11	- Síntese das hidantoínas 5,5-dissubstituídas pela reação de Bucherer-Bergs em aquecimento convencional (20a-d).....	144
5.12	- Síntese dos compostos 21a-d	146
5.13	- Síntese dos compostos híbridos (22a-b).....	147
5.14	- Síntese das hidantoínas 5- e 5,5- dissubstituídas através da Reação de Bucherer-Bergs em fluxo contínuo	148
5.14.1	- Síntese em fluxo contínuo da spiro(hidantoin-5,2'-tetralina (20m))....	150
5.14.2	- Síntese em fluxo contínuo da 5,5-dimetil-2,4-imidazolidinadiona (20d)	151
5.15	- Síntese das hidantoínas <i>N</i> (3)-substituídas (24a,c-f, i-k).....	151
5.16	- Funcionalização C-H em fluxo contínuo	154
5.17	- Bioensaios de Inibição da AChE	156
5.17.1	- Imobilização da enzima AChE-ee.....	156
5.17.2	- Avaliação da porcentagem de inibição dos compostos sintetizados	157
6	- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	161
7	- ANEXOS.....	180

Introdução

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – A doença de Alzheimer

Com mais de 47 milhões de casos em todo o mundo, a doença de Alzheimer (DA) é considerada a desordem neurodegenerativa mais comum dos dias atuais, e uma das doenças mais preocupantes do ponto de vista social e econômico.^{1,2} A DA é caracterizada por se manifestar precocemente ou esporadicamente. No primeiro caso, mutações de genes específicos, como por exemplo, da proteína precursora do peptídeo amiloide (APP, do inglês, *amyloid precursor protein*) são as principais causas do desenvolvimento da doença. Em contrapartida, os casos esporádicos são provenientes de uma etiologia complexa e multifatorial, relacionada a fatores genéticos e neurobiológicos.²

A doença foi descrita primeiramente em 1907 pelo neuropatologista Dr. Alois Alzheimer a partir da observação microscópica da presença de emaranhados neurofibrilares e do acúmulo anormal de proteína β -amilóide em neurônios de pacientes com a demência, e é caracterizada pela perda gradual da memória, linguagem, orientação e julgamento. Além dessas primeiras características histopatológicas observadas por Alzheimer, outras alterações neurobiológicas são relacionadas ao aparecimento e desenvolvimento irreversível da doença.³

Os mecanismos que explicam as alterações neurológicas nos pacientes, levam em consideração a perda progressiva dos neurônios corticais.⁴ Por exemplo, a hipótese amilóide estuda a doença com base nas primeiras características patológicas observadas: neste caso, a formação dos emaranhados neurofibrilares ocorre pela hiperfosforilação anormal da proteína Tau, responsável pela estabilização do citoesqueleto do neurônio e pelo transporte intracelular.⁵ Além disso, essa hipótese também afirma que a ocorrência das placas senis é resultado da clivagem errônea do APP por secretases, gerando uma forma insolúvel da proteína β -amilóide, a $A\beta_{42}$, que se deposita nos neurônios originando os agregados tóxicos.² Dentre as três secretases existentes, α , β , γ , apenas a β e a γ induzem a formação dos agregados insolúveis. Desta forma, tais enzimas são estudadas como alvos terapêuticos no tratamento da DA. Entretanto, estudos demonstraram que a inibição da γ -secretase induz inúmeros efeitos colaterais, sendo portanto, a β -secretase o principal alvo dessa classe de enzima. Alguns exemplos de inibidores da β -secretase tem sido descritos

como por exemplo os peptídeos miméticos, derivados de estatinas.⁶ Além disso, estudos baseados no tratamento imuno-terápico através dos chamados medicamentos biológicos indicaram que anticorpos monoclonais como Bapneuzumab, Ganteneurumab e Aducanumab reduzem a formação dos agregados de β -amilóide em pacientes com Alzheimer.^{7,8}

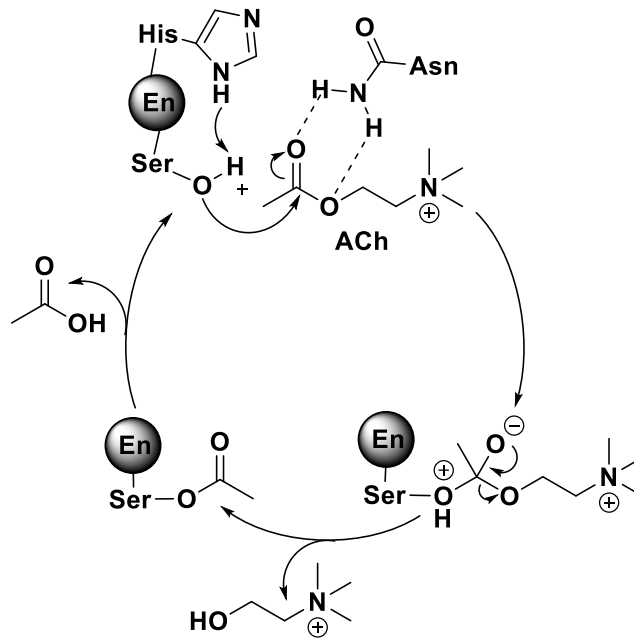
Outras alterações diagnosticadas a nível celular no cérebro de pacientes da DA são estudadas por hipóteses relacionadas ao estresse oxidativo, às características inflamatórias, à concentração de íons mensageiros como Ca^{2+} e à concentração de neurotransmissores colinérgicos.⁴

Especificamente, a hipótese colinérgica se baseia na deficiência da função colinérgica, diretamente relacionada à concentração do neurotransmissor acetilcolina (ACh), que atua na região terminal dos neurônios. Esta região é responsável pela condução dos impulsos entre as células relacionados à processos motores, cognitivos e de memória.⁹

1.1.1 – A enzima acetilcolinesterase e o tratamento sintomático da doença de Alzheimer

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima pertencente às colinesterases que está presente nas hemácias, terminações nervosas e nos músculos estriados. Nas sinapses, tem como função primordial o término da transmissão colinérgica, sendo a principal enzima responsável pela hidrólise do neurotransmissor ACh. A reação enzimática ocorre no sítio ativo da AChE, composto pela tríade catalítica serina (Ser-200), histidina (His-440) e glutamato (Glu-327).

O mecanismo de hidrólise catalisada pela AChE inicia-se através do ataque nucleofílico da serina ao carbono carbonílico da ACh, gerando um intermediário tetraédrico, que após delocalização eletrônica, leva a formação de colina e serina acetilada. Por fim, a hidrólise do grupo acetila da serina recupera o sítio catalítico da enzima (Esquema 1.1).¹⁰



ESQUEMA 1.1: Mecanismo simplificado da reação de hidrólise enzimática da ACh.

Em pacientes com a doença de Alzheimer, a hiperatividade da AChE faz com que a concentração do neurotransmissor seja consideravelmente menor do que aquela encontrada em cérebros saudáveis, levando à ineficiência da transmissão dos estímulos e ao aparecimento dos sintomas típicos da demência.⁴ Além disso, a AChE é também relacionada a funções não-colinérgicas, tendo participação na formação e no aumento da toxicidade das placas β -amilóides.^{11,12}

Neste contexto, ainda que não existam fármacos capazes de interromper ou regredir os danos causados pela degeneração das funções cognitivas, a maioria dos medicamentos comercializados para o tratamento sintomático da doença são inibidores enzimáticos da AChE (AChEIs),⁹ que garantem o aumento da transmissão colinérgica pelo reestabelecimento da concentração de ACh nas sinapses nervosas.³

Atualmente, dentre os cinco medicamentos aprovados pelo FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) para o tratamento dos sintomas cognitivos, quatro são inibidores da enzima AChE: tacrina (Cognex), donepezila (Aricep), rivastigmina (Exelon) e galantamina (Razadyne, Reminyl)³ (Figura 1.1).

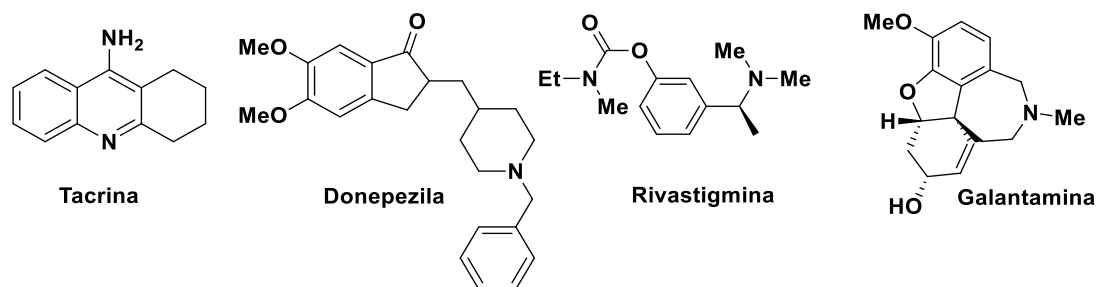


FIGURA 1.1: Medicamentos inibidores da AChE para o tratamento da doença de Alzheimer.

Entretanto, estes fármacos apresentam inconvenientes decorrentes das altas dosagens ministradas. Devido aos graves efeitos hepatotóxicos relacionados ao uso da tacrina, o medicamento teve seu uso descontinuado.¹³ Além disso, apesar da donepezila, rivastigmina e galantamina serem amplamente utilizadas nos estágios iniciais e moderados da doença, estes apresentam vários efeitos colaterais provenientes da excessiva ativação do sistema colinérgico, tais como confusão, alucinação, dores estomacais e mudança brusca de comportamento.¹⁴

Devido à etiologia complexa da doença, e às funções colinérgica e não colinérgicas que a AChE desempenha no desenvolvimento da DA, esforços tem-se despendido na busca de compostos multialvos, capazes de atuar em mais de uma característica patológica. Como exemplo, estudos com donepezila mostraram a capacidade do composto em inibir a reação enzimática com o substrato no sítio catalítico, além de bloquear interações do sítio periférico da enzima, limitando a assistência da enzima na agregação da proteína β -amilóide.¹⁵

Visto às altas dosagens ministradas e os efeitos colaterais consequentes do uso dos AChEIs comerciais, a busca por novos inibidores menos tóxicos, mais seletivos e até mesmo multialvos da enzima AChE é de grande importância e tem sido explorada em diversos grupos de pesquisa.^{16,2}

1.1.2 – Heterociclos como inibidores da AChE

Dentre os compostos conhecidos como inibidores da AChE, os *N*- e *O*-heterociclos, tanto naturais como sintéticos, possuem papel de destaque. Esteróides como a witaferina A, alcalóides como a tacrina, galantamina, coptisina e rutaecarpina,

e terpenóides, como a criptotanshinona, são algumas classes representantes dos inibidores naturais (Figuras 1.1 e 1.2).¹⁷

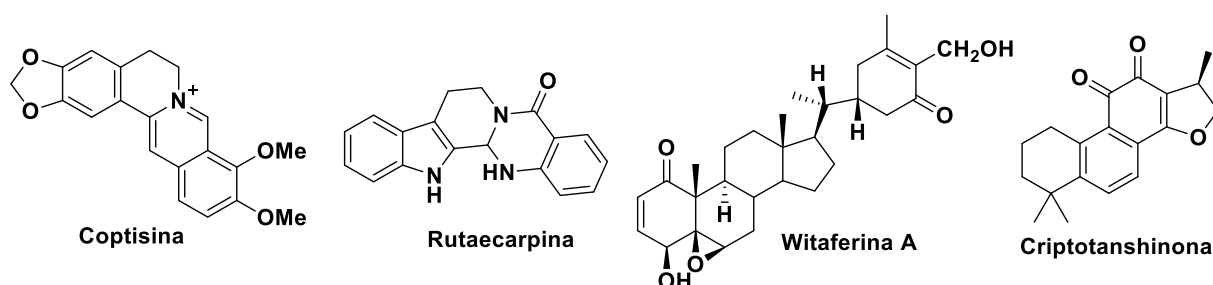


FIGURA 1.2: Estrutura de produtos naturais inibidores de colinesterases.

Uma classe que tem recebido crescente destaque dentre os compostos O-heterocíclicos inibidores naturais da enzima é a das cumarinas. Em 2001, Kang *et al.* descreveram o isolamento e a avaliação da atividade enzimática frente à AChE de uma série de cumarinas, incluindo pirano- e furano-derivados (Figura 1.3).¹⁸ Dentre os compostos estudados, a diidropiranocumarina decursinol apresentou o melhor resultado inibitório ($IC_{50} = 28 \mu M$), sendo mais potente que seu análogo decursina ($IC_{50} = 390 \mu M$) e que as cumarinas e furanocumarinas avaliadas. Cabe ressaltar que fármacos como a tacrina e galantamina apresentam IC_{50} – através do ensaio de Ellman – iguais a 0,25 e 0,54 μM , respectivamente.¹⁹

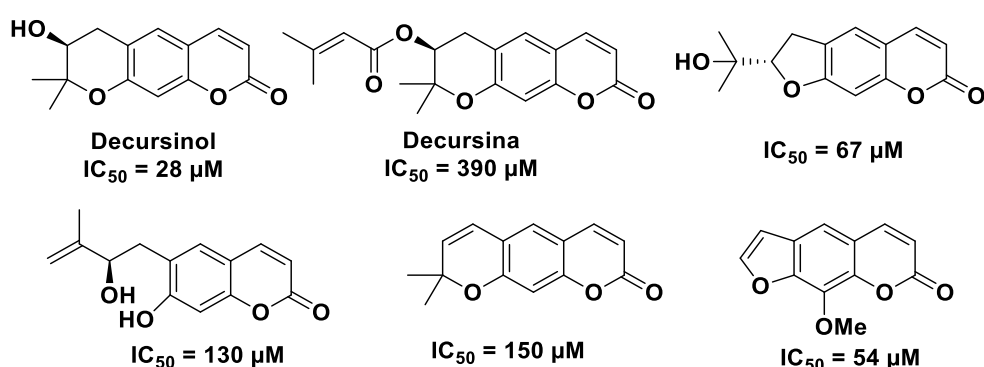


FIGURA 1.3: Derivados de cumarina isolados de *Angelica gigas* Nakai e seus respectivos valores de IC_{50} frente a AChE.

Além disso, cumarinas sintéticas já foram descritas como potentes inibidores da AChE.²⁰ Em 2013, Vanzolini *et al.* descreveram a atividade inibitória de

uma coleção de cumarinas sintéticas frente à AChE proveniente do peixe elétrico *Electrophorus electricus* (AChE-ee), sendo o composto mais potente o 2-oxo-7-(2-(piperidin-1-il)etoxi)-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (**LSPN223**) (Figura 1.4), com $IC_{50} = 356$ nM.²¹

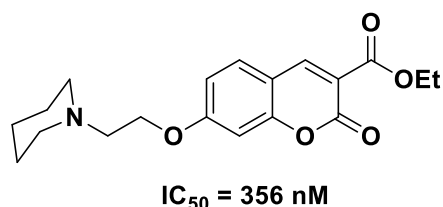


FIGURA 1.4: Cumarina **LSPN223**

Representando uma importante classe de inibidores do tipo *N*-heterocíclicos estão as hidantoínas e seus derivados, que são conhecidos tanto pelo seu potencial inibitório frente à AChE,^{22,23,24} como pela inibição de kinases, responsáveis pela hiperfosforilação da proteína Tau.²⁵ A capacidade inibitória das hidantoínas frente à duas das enzimas relacionadas a DA é interessante do ponto de vista da busca de compostos bioativos multialvos (Figura 1.5).⁴

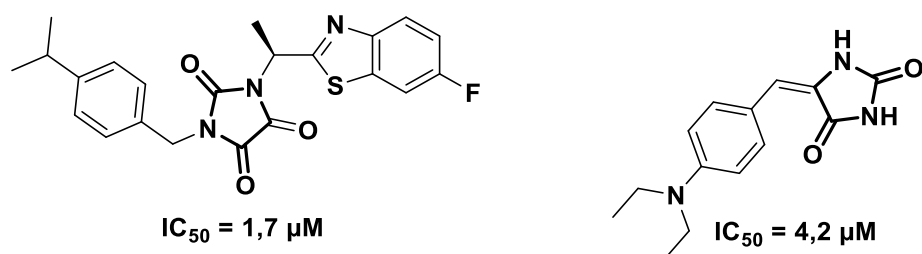


FIGURA 1.5: Hidantoínas inibidoras da AChE e da GSK-3 β , respectivamente.

Além desses heterociclos, compostos naturais e sintéticos contendo o anel indol e pirrol nas estruturas também são relatados como inibidores da AChE.²⁶ Por exemplo, Muñoz-Ruiz *et al.* descreveram aumento significativo da atividade inibitória da tacrina pela síntese de hetero-dímeros de tacrina-indol, chegando a valores de IC_{50} na faixa de pM.²⁷ Além disso, alguns dos compostos sintetizados foram capazes de inibir também o sítio periférico da enzima, diminuindo a deposição das placas de β -amilóide *in vivo*. Outro trabalho relacionado à atividade enzimática frente

à AChE de aza-carbazóis, que contém o anel indólico na estrutura, foi reportado por Geissler *et al.*, em que dois sais de alcalóides indólicos, isolados do fungo *Cortinarius infractus*, apresentaram IC_{50} próximos e seletividades superiores à da galantamina (Figura 1.6).²⁸

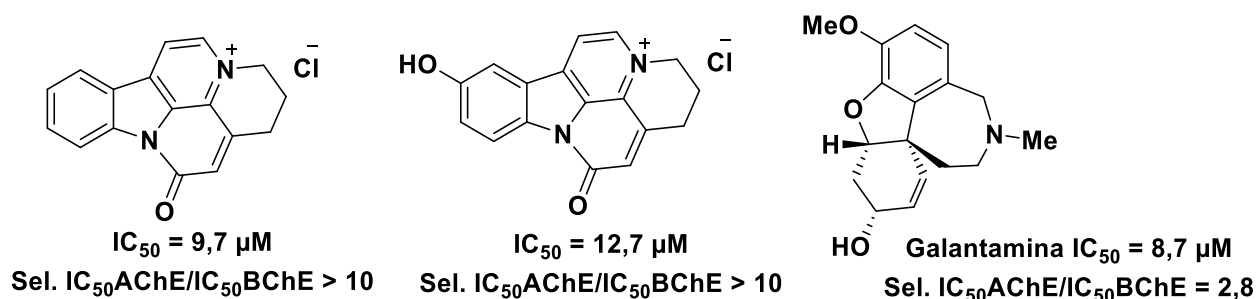


FIGURA 1.6: Sais derivados de alcalóides inibidores da AChE.

A síntese de sais derivados de compostos bioativos com o intuito de potencializar a atividade foi também reportada por Baharloo *et al.*²⁹ Neste trabalho, os autores relataram a síntese de uma coleção de sais de benzofuranonas e benzofuranos e demonstram que tais compostos poderiam interagir com a AChE através da porção piperidínica e da porção indanona. Dentre os compostos sintetizados, o derivado bis-metilado apresentou melhor $IC_{50} = 4,1 \text{ nM}$, 7 vezes mais potente que a donepezila (Figura 1.7). Outros sais orgânicos contendo o anel piridínico carregado positivamente e sais derivados de diidroquinolinas já foram relatados como potentes inibidores da enzima acetilcolinesterase.^{30,31}

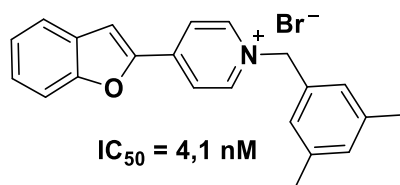


FIGURA 1.7: Sal de benzofurano com atividade inibitória frente à AChE

1.1.3 – Estratégias na busca de compostos bioativos

A Química Medicinal é uma área de pesquisa multidisciplinar que envolve aspectos das ciências biológicas, médicas e farmacêuticas. As etapas presentes em um projeto dessa área podem ser divididas em descoberta, otimização e desenvolvimento de um protótipo.³²

Uma das estratégias na descoberta de compostos bioativos é a chamada hibridação molecular, que estuda a atividade derivada do sinergismo de duas unidades farmacofóricas com conhecida atividade biológica.^{33,34} Geralmente, o composto híbrido pode ser derivado da união entre dois grupos que exibem a mesma atividade farmacológica, mas em alvos distintos; da junção de unidades com atividade biológicas diferentes, mas com relação a um quadro patológico em comum; ou através da ligação covalente entre estruturas que anulem interações secundárias indesejáveis provenientes de suas ações terapêuticas.³⁵

Neste contexto, a síntese de compostos híbridos é uma ferramenta bastante eficaz na busca por fármacos mais eficazes e multi-alvos. Especificamente para o tratamento da DA, são planejados compostos híbridos que possuam tanta atividade inibitória frente às colinesterases e secretases, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anti-agregação de proteínas β -amilóides.³⁶ Jiang *et al.* relataram estudos com uma variedade de compostos híbridos utilizando a berberina como subunidade comum. Neste trabalho, um dos compostos híbridos demonstrou moderada inibição frente à AChE, elevado efeito antioxidante e excelente supressão da agregação β -amilóide, evidenciando o potencial multialvo da substância em comparação com a berberina (Figura 1.8).³⁷

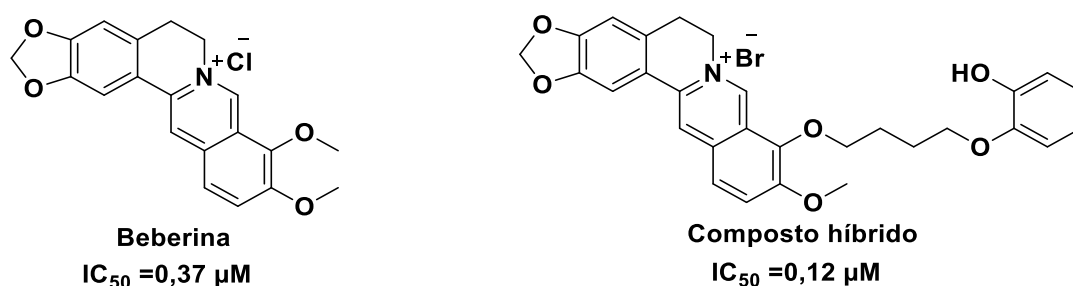


FIGURA 1.8: IC₅₀ da berberina e do híbrido fenol-berberina.

A inserção de átomos de flúor em unidades farmacofóricas, principalmente de grupos trifluormetil é outra estratégia amplamente utilizada em pesquisas relacionadas ao descobrimento de novos fármacos, conhecida como bioisosterismo.³⁸ De modo geral, a presença de um grupo trifluormetil em um composto bioativo aumenta sua estabilidade metabólica, lipofilicidade, permeabilidade à membrana e biodisponibilidade.³⁹ Além disso, devido à elevada eletronegatividade

do grupo CF_3 , a incorporação deste grupo em um fármaco pode promover mudanças seletivas em suas propriedades físico-químicas, biológicas e farmacológicas.⁴⁰ A Figura 1.9 apresenta exemplos de estruturas de princípios ativos presentes em fármacos comerciais que contém o grupo CF_3 .

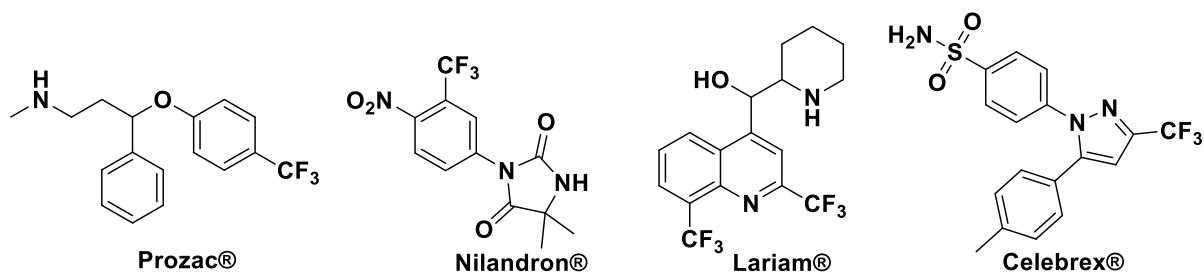


FIGURA 1.9: Exemplos de fármacos que contém o grupo CF_3 em suas estruturas.

Estudos teóricos com derivados halogenados da donepezila demonstraram que o composto análogo com o grupo CF_3 proporcionou melhores interações não-covalentes (π - π *stacking*) com diversas cavidades e sítios aniônicos da AChE, levando a interações mais efetivas e seletivas. Essa observação é resultado de uma série de modificações físico-químicas que a presença do CF_3 confere à molécula, como por exemplo, aumento do momento de dipolo e maior interação entre o ligante e a biomolécula, evidenciado pela menor energia de Gibbs do complexo proteína-ligante (Figura 1.10).³⁸

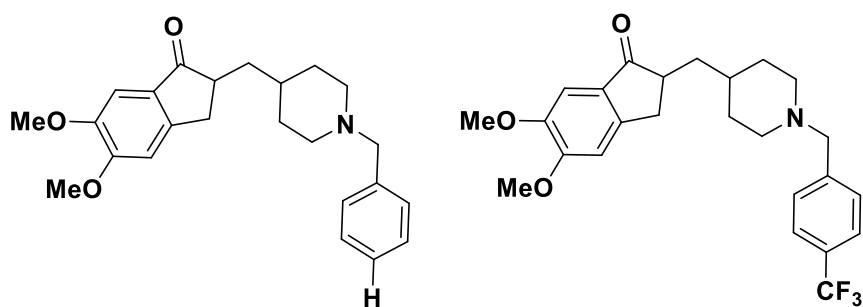


FIGURA 1.10: Donepezila e seu análogo trifluorometilado.

Estudos experimentais sobre a potencialização da atividade biológica de análogos trifluorometilados foram realizados pelo grupo do Prof. Molinski.⁴¹ Neste trabalho, os autores descreveram a avaliação biológica de 22 derivados do produto natural (-)-Agelastatina A, isolado da esponja marinha *Agelas dendromorpha*, frente

à linhagens de células relacionadas à leucemina, e observaram aumento significativo na potência da atividade do composto trifluormetilado (Figura 1.11).

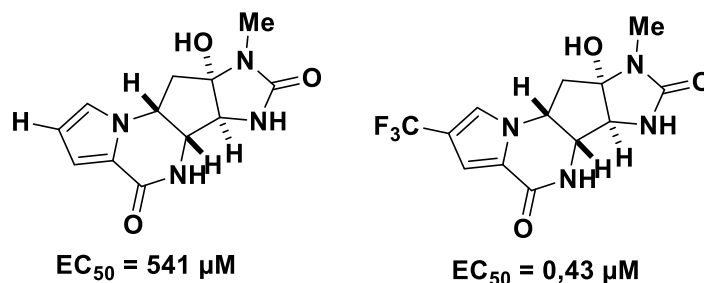


FIGURA 1.11: Comparação da potência biológica do produto natural Agelastatina A e do seu análogo trifluormetilado.

1.1.4 – Ensaios enzimáticos na descoberta de inibidores da AChE

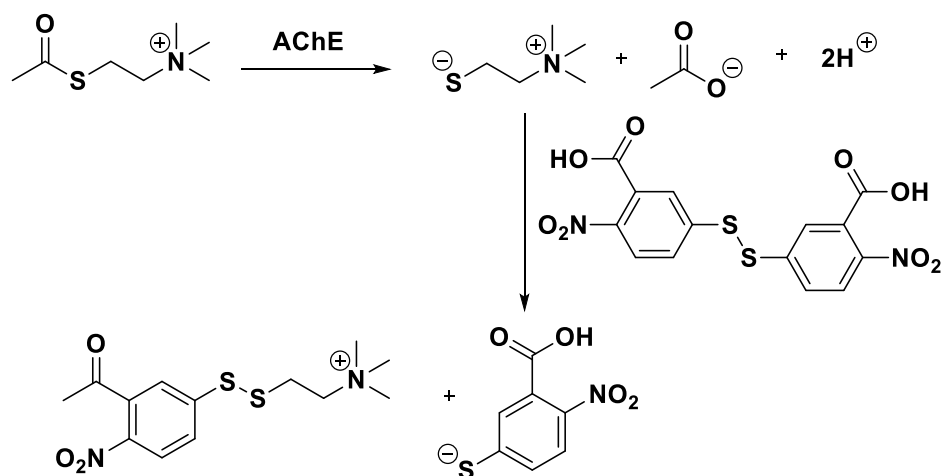
A descoberta dos compostos bioativos se faz através dos ensaios de triagens que, a depender do modo em que são realizados, podem ser divididos em ensaios em solução ou com biorreatores. Nos ensaios em solução, todos os componentes da reação enzimática, incluindo o alvo biológico, estão dispersos na mistura analisada. Em contrapartida, através da cromatografia de bioafinidade, os ensaios com biorreatores são caracterizados pela imobilização do alvo biológico em suportes sólidos. Independente da natureza do ensaio utilizado, algumas características como exatidão, precisão, reprodutibilidade e velocidade das análises são extremamente importantes para a confiabilidade e relevância do teste.⁴²

1.1.4.1– Ensaios em solução

Dois testes bio-autográficos destacam-se como os ensaios em solução mais utilizados na busca por inibidores da AChE: os ensaios de Ellman e de Marston.¹⁰

O ensaio de Ellman é um método colorimétrico no qual a reação enzimática analisada é a hidrólise da acetiltiocolina pela AChE, sendo a resposta medida em relação à velocidade de formação da tiocolina.⁴³ A quantificação do produto é determinada através da reação do tiol com o ácido (5,5-ditiobis[2-nitrobenzóico]) (RSSR), também conhecido como reagente de Ellman - a formação do

ácido 5-tio-2-nitro-benzóico é evidenciada pelo aparecimento de uma coloração amarelada, detectada por um espectrofotômetro de UV-Vis à 412 nm (Esquema 1.2).

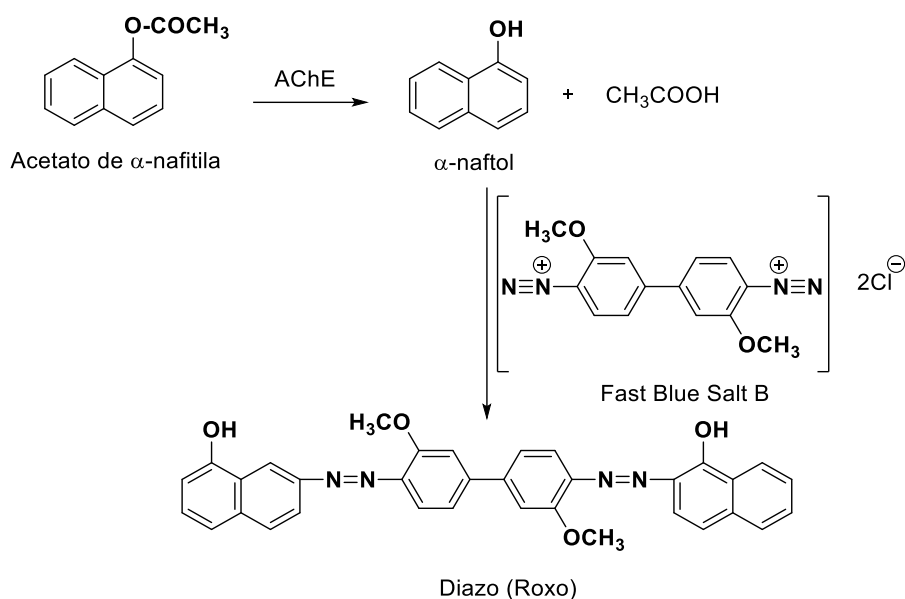


ESQUEMA 1.2: Reações que governam o ensaio de Ellman

O uso de acetiltiocolina como substrato nesse ensaio se faz possível devido à analogia estrutural do composto com a acetilcolina,¹⁰ embora seja mais caro que o substrato natural, elevando o custo do ensaio (R\$ 589,00 e R\$ 362,00 por 5 g de cada um dos iodetos, respectivamente¹). Além disso, o principal inconveniente deste método é a triagem de compostos que possam reagir com a tiocolina, como aldeídos e aminas, que culminam em resultados falso-positivos. Neste caso, estes compostos impedem a reação entre a tiocolina e o reagente de Ellman, bloqueando a formação do ânion amarelo, não pela inibição enzimática, mas pela inibição da reação química.⁴⁴

Um dos métodos capazes de averiguar esses resultados falso-positivos é o ensaio de Marston.⁴⁵ O método foi criado para avaliar rapidamente extratos de plantas, e baseia-se na aplicação dos compostos a serem avaliados em placas cromatográficas. Após eluição das placas, uma solução de enzima e tampão é borrifada, seguida da solução de acetato de α -naftila e o sal *Fast Blue B*. A determinação da atividade enzimática se faz a partir da conversão do acetato de α -naftila no α -naftol que reage com o sal *Fast Blue B*, levando à formação de um composto diazo roxo (Esquema 1.3).

¹ Valores obtidos do site da Sigma Aldrich dia 26/06/2017.



ESQUEMA 1.3: Hidrólise do acetato de α -naftila catalisada pela AChE e a reação do α -naftol com o sal Fast Blue.

Inibidores da AChE produzem halos brancos sobre a coloração púrpura na placa cromatográfica, uma vez que não permitem a formação do α -naftol. A fim de se estabelecer um limite de detecção para o ensaio, os inibidores são aplicados concomitantemente com o padrão, que na maioria dos casos é a galantamina, em diferentes concentrações na placa cromatográfica, escolhendo-se a menor concentração em que se faz possível a visualização da mancha esbranquiçada como limite inferior.⁴⁵

Essa técnica tem como vantagens a simplicidade e a rapidez com que os resultados são obtidos, possibilitando a determinação de inibidores em misturas complexas, uma vez que os constituintes são separados e detectados na placa de TLC. Entretanto, o método proporciona resultados qualitativos e, portanto, também deve ser confirmado por outros ensaios enzimáticos.

1.1.4.2- Ensaio com biorreatores

A chamada cromatografia por bioafinidade consiste no emprego de um alvo biológico imobilizado em suportes sólidos como fase estacionária (biorreatores) em sistemas cromatográficos.⁴⁶ O uso da cromatografia líquida acoplada aos biorreatores proporciona elevada seletividade através de interações eletrostáticas, hidrofóbicas e de ligações de hidrogênio.⁴⁷ Desta forma, o ensaio com enzimas

imobilizadas pode ser uma alternativa mais precisa e reprodutível aos ensaios convencionais em solução. Além disso, os ensaios com biorreatores apresentam como vantagens o uso de pequenos volumes de amostra (pL-nL) e o aumento estabilidade e da vida útil da enzima, além da reutilização da enzima em diversas triagens.⁴⁷

Vários trabalhos utilizando biorreatores de AChE como fase estacionária de um sistema CLAE acoplado à um espectrômetro de massas como detector delinearam a eficiência do método em triagens de ligantes e estudos mais detalhados com diferentes classes de compostos de inibidores da AChE-*ee* e AChE-*hu* (acetilcolinesterase de eritrócitos humanos).⁴⁸

Nestes ensaios, a reação enzimática de hidrólise da acetilcolina é avaliada na presença e na ausência dos potenciais inibidores, sendo a produção de colina monitorada pelo espectrômetro de massas e quantificada através das curvas de calibração do método validado.²¹ A Figura 1.12 apresenta um esquema simplificado do sistema utilizado nesses ensaios.

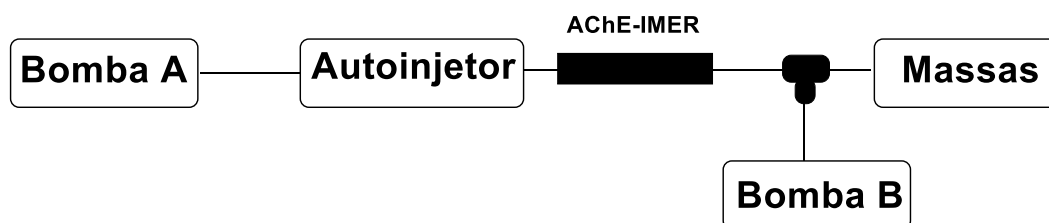


FIGURA 1.12: Exemplo de um instrumento de CLAE adaptado para ensaios com o biorreator de AChE.

1.2 – Síntese de compostos heterociclos

Conforme discutido na seção 1.1.2, os compostos heterociclos são inibidores potentes da AChE. Dessa forma, nesta seção serão apresentadas as metodologias sintéticas mais utilizadas para a obtenção de duas classes importantes destes compostos, as cumarinas e hidantoinas.

1.2.1 – Cumarinas e piranocumarinas

As cumarinas (Figura 1.3) são compostos derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico pertencentes a família das benzopiranonas.

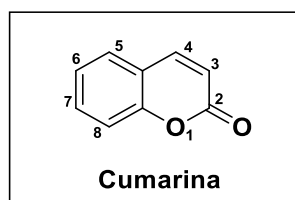


FIGURA 1.13: Estrutura geral das cumarinas.

Cumarinas naturais podem ser encontradas em micro-organismos e em diversas plantas, sendo correlacionadas a diversas propriedades farmacológicas, como antitumoral, bactericida, antiviral e inibidores de colinesterases.⁴⁹ Alguns exemplos de medicamentos são a Coumadin®, um anticoagulante utilizado no tratamento de trombose, e o Meladinine®, indicado para doenças como dermatites e vitiligo (Figura 1.14).

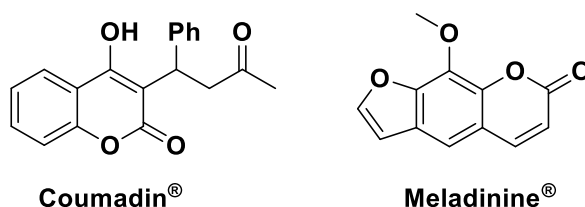
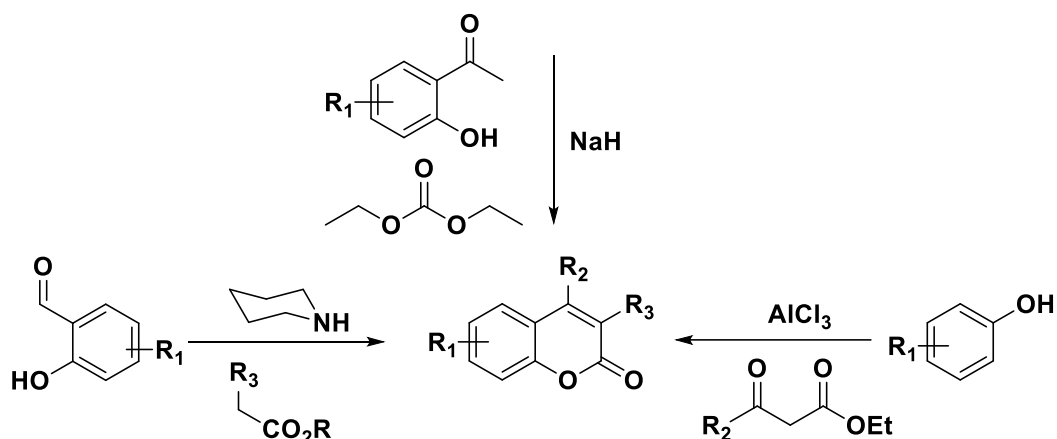


FIGURA 1.14: Exemplos de fármacos derivados de cumarinas.

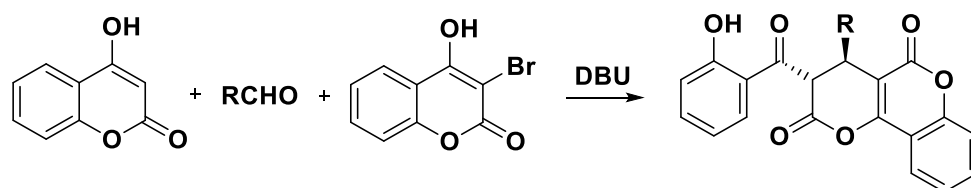
Inúmeras são as metodologias descritas para a síntese das cumarinas e seus análogos. Entretanto, os métodos clássicos para obtenção destes compostos são a partir de reações com compostos carbonílicos como acetofenonas ou derivados de fenóis. Reações como a condensação entre *o*-hidroxiacetofenonas e carbonato de dietila,⁵⁰ Knoevenagel,⁵¹ Pechmann⁵² fazem parte do escopo das reações utilizadas para obtenção dessa classe de heterociclos (Esquema 1.4).⁴⁹



ESQUEMA 1.4: Metodologias empregadas para a síntese de cumarinas.

Além da aplicação das cumarinas na química medicinal, o uso desse heterociclo como bloco construtor em reações orgânicas também é bastante explorado. Neste contexto, as cumarinas contendo um anel pirano fundido, chamadas de piranocumarinas são bastante interessantes do ponto de vista sintético e biológico, sendo relacionadas à diversas atividades biológicas como por exemplo, antifúngica, inseticida, anticâncer, anti-HIV, anti-inflamatória e bactericida.⁵³

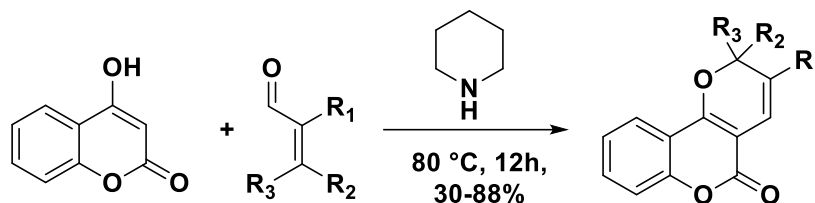
Geralmente, esses compostos são obtidos através de reações com as 4-hidroxycumarinas. Ahadi *et al.*, por exemplo, descreveram a formação das piranocumarinas através de uma metodologia multicomponente empregando 4-hidroxycumarinas e aldeídos na presença de DBU (Esquema 1.5).⁵⁴



ESQUEMA 1.5: Síntese diastereosseletiva de piranocumarinas

Além disso, Cravotto *et al.* descreveram a síntese de piranocumarinas através de uma cicloadição formal (3+3) da 4-hidroxycumarina e aldeídos α,β -insaturados, na presença de piperidina (Esquema 1.6).⁵⁵ Neste caso a reação ocorre em duas etapas: primeiramente o íon imínium reage com a 4-hidroxycumarina através

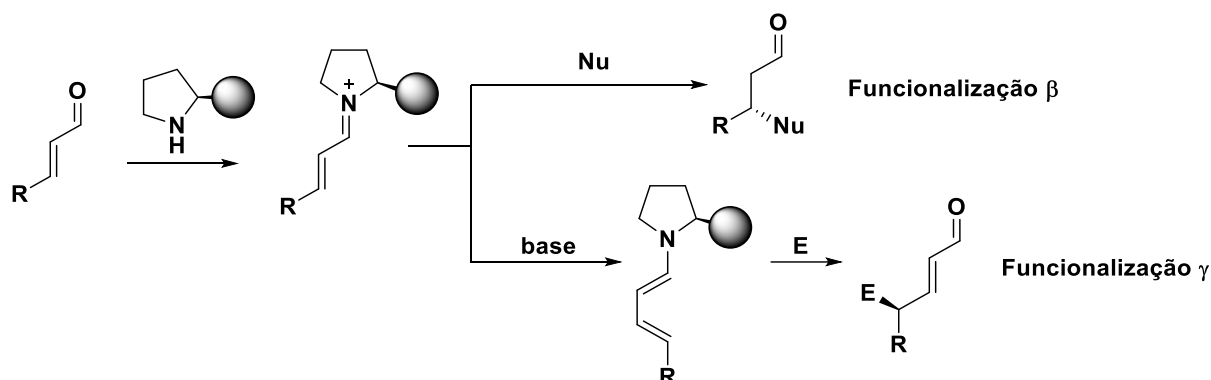
de uma reação de Knoevenagel seguida de uma reação de eletrociclicação envolvendo 6 e⁻ π.⁵⁶



ESQUEMA 1.6: Síntese de piranocumarinas através de reação de cicloadição formal (3+3).

1.2.1.1 – Organocatálise assimétrica na síntese de piranocumarinas

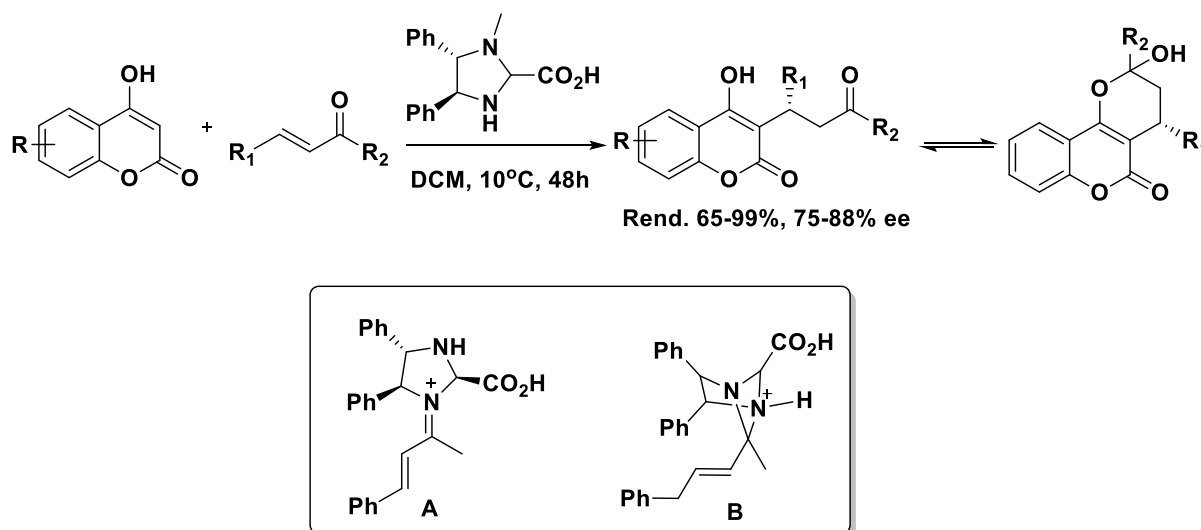
A organocatálise assimétrica é uma estratégia eficiente para transformações estereosseletivas, levando à formação de produtos com alto grau de enantiosseletividade.⁵⁷ Neste contexto, o uso de organocatalisadores derivados de aminas quirais em reações orgânicas têm sido amplamente descrito nos últimos anos.⁵⁸ A aplicação desses aminocatalisadores em reações com compostos carbonílicos α,β-insaturados pode resultar em duas possíveis funcionalizações: a obtenção de compostos β-funcionalizados, pelo ataque de um nucleófilo na posição β do composto carbonílico, ou a formação de compostos γ-funcionalizados, através da reação dos compostos insaturados com uma espécie eletrofílica (Esquema 1.7).



ESQUEMA 1.7: Possíveis funcionalizações de compostos carbonílicos α,β-insaturados com organocatalisadores derivados da prolina.

A síntese assimétrica organocatalisada de piranocumarinas foi relatada primeiramente pelo grupo do Professor Jørgensen em 2003.⁵⁹ Neste trabalho, os autores apresentaram a síntese de diidropiranocumarinas contendo um hemiacetal no anel pirano através da adição conjugada de Michael de 4-hidroxicumarinas substituídas a diferentes cetonas α,β -insaturadas aromáticas e alifáticas.

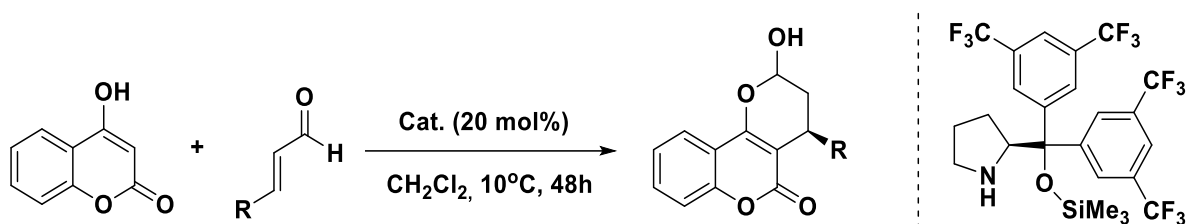
Diferentemente de outras metodologias em que catalisadores bifuncionais de aminas primárias⁶⁰ são empregados para ativar cetonas α,β -insaturadas, o trabalho mostra a eficiência de catalisadores derivados de imidazolidinas para essa transformação. Neste caso, duas possíveis espécies podem ser responsáveis pela estereoquímica do produto: o íon imínium formado pela adição da cetona ao catalisador de amina secundária (**A**) ou o aminal bicíclico derivado do ataque nucleofílico do hemiaminal ao carbono eletrofílico do intermediário anterior (**B**). Cálculos teóricos sugerem que o aminal bicíclico confere maior reatividade à dupla ligação, pela menor energia de LUMO do centro eletrofílico do intermediário, além de proporcionar melhor bloqueio da face *Re* do alceno, quando comparado ao impedimento gerado pelo íon imínium (Esquema 1.8).⁵⁹



ESQUEMA 1.8: Reação de Michael organocatalisada entre 4-hidroxicumarinas e cetonas α,β -insaturadas.

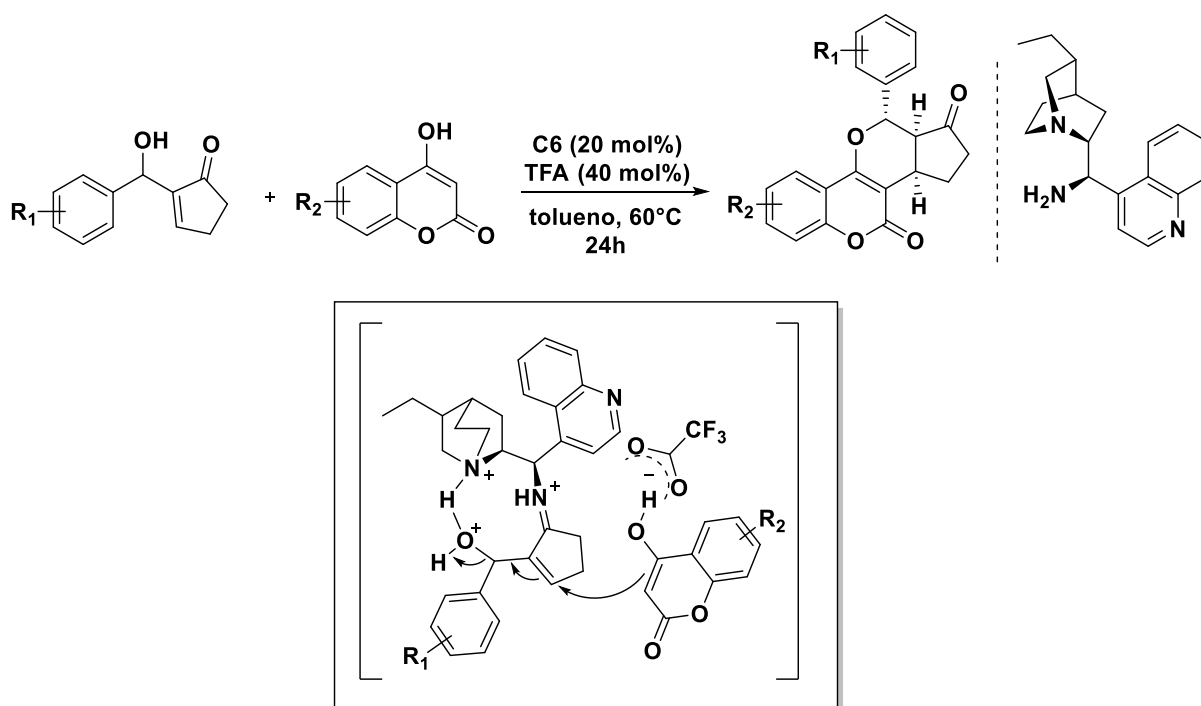
A versão assimétrica da síntese de piranocumarinas a partir da 4-hidroxicumarina e aldeídos α,β -insaturados, ao invés de enonas, foi desenvolvida por Rueping *et al.* em 2008. Neste caso, os produtos contendo o grupamento hemiacetal

foram obtidos através do aminocatalisador de Jørgensen, utilizando diclorometano como solvente à 10°C em tempos reacionais de 48-96 h (Esquema 1.9).⁶¹



ESQUEMA 1.9: Adição de Michael da 4-hidroxicumarina a aldeídos α,β -insaturados.

Recentemente, Ren *et al.* descreveram a síntese enantiosseletiva de piranocumarinas através da reação entre a 4-hidroxicumarina e adutos cíclicos de Morita-Baylis-Hillman (MBH), utilizando organocatalisadores derivados do alcalóide chinchona.⁶² Através do uso de TFA como aditivo ácido e tolueno como solvente, os autores demonstraram a versatilidade da metodologia com o uso de diversos adutos de MBH e 4-hidroxicumarinas substituídas. Neste caso, o organocatalisador desempenha papel bifuncional no mecanismo da reação, participando efetivamente tanto da formação do íon imínium quanto da formação da ligação de hidrogênio entre a amina secundária e o álcool do material de partida (Esquema 1.10).



ESQUEMA 1.10: Síntese enantiosseletiva de piranocumarinas organocatalisada por derivado de chinchona. Em destaque, a interação do organocatalisador com o substrato.⁶²

Apesar da existência de metodologias multicomponentes (MCRs) para a síntese das piranocumarinas, o uso desses compostos como materiais de partida em MCRs ainda é pouco explorado. Especificamente para as reações multicomponentes, esses derivados de cumarinas apresentam como vantagem a existência de dois componentes reativos em suas estruturas: um aldeído e um enol conjugado (Figura 1.15).

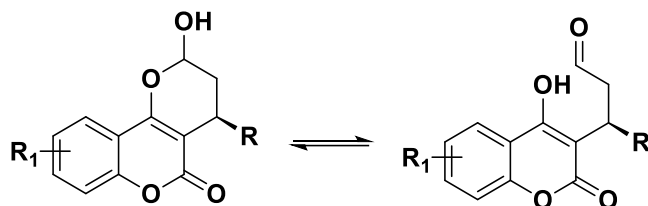


FIGURA 1.15: Equilíbrio tautomérico do hemiacetal no anel pirano.

1.2.2 – Hidantoínas e derivados

A descoberta da hidantoína, também conhecida como imidazolidinona, foi descrita em 1861 por Baeyer.⁶³ Desde então, sua estrutura (Figura 1.16) tem sido estudada intensivamente quanto aos seus aspectos químicos e os seus potenciais biológicos.⁶⁴

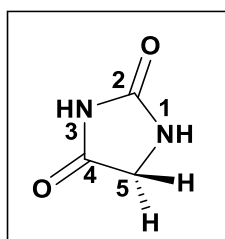


FIGURA 1.16: Estrutura geral das hidantoínas.

Hidantoínas naturais são normalmente encontradas em espécies marinhas, como por exemplo, a (*Z*)-5-(4-hidroxibenzilidina)-hidantoína⁶⁵ isolada da esponja *Hemimycale arábica*, e a classe das Parazoantinas A-E, extraídas da esponja *Axinella damicornis*⁶⁶ (Figura 1.17).

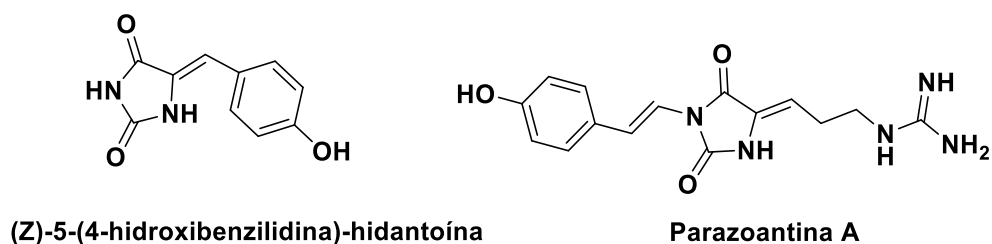


FIGURA 1.17: Hidantoínas naturais derivadas de espécies marinhas.

O sistema anelar hidantoínico é relacionado a uma gama de atividades biológicas, dentre as quais se destacam a anticonvulsivante, fungicida, herbicida, anti-inflamatória, anti-HIV, analgésica, antiarrítmica, anti-hipertensiva, antidiabetes, além da relação com doenças neurodegenerativas como o Alzheimer.^{22,25} Cabe ressaltar a importância do núcleo hidantoína na indústria farmacêutica, visto a diversidade de medicamentos que contêm esse heterociclo em suas estruturas. Como exemplo, destacam-se os anticonvulsivos fenitoína (Dilantim[®] USA) e Cerebyx[®] e o antibiótico Macrofantina[®] (Figura 1.18).⁶⁴

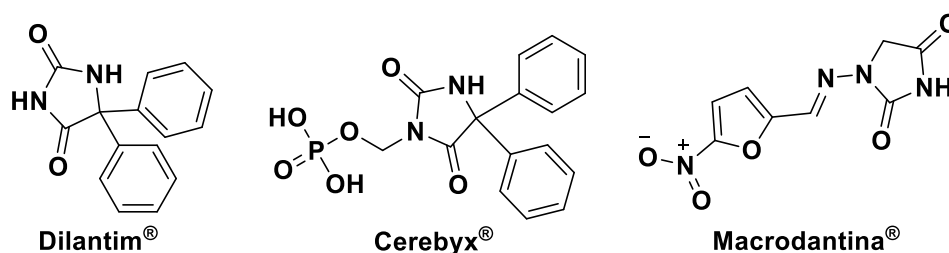


FIGURA 1.18: Exemplos de fármacos derivados de hidantoínas.

Do ponto de vista estrutural, as hidantoínas são consideradas ácidos fracos, sendo a desprotonação do hidrogênio da posição 3 mais favorável que a retirada do hidrogênio do N1 (pka N3 = 9,0).⁶⁴ Kleipeter *et al.* demonstraram a acidez dos dois hidrogênios de hidantoínas 5,5-dissubstituídas através de experimentos com solventes deuterados. A partir dos experimentos realizados em água, os autores observaram que os dois hidrogênios ligados aos nitrogênios sofrem troca com o solvente instantaneamente. Entretanto, os espectros de RMN ¹H em DMSO-d6 demonstraram que o hidrogênio ligado à imida sofre troca total, enquanto o ligado ao N1 (amida) permanece com aproximadamente 35% de intensidade, sugerindo maior acidez do hidrogênio N3.⁶⁷ Isso é explicado pela maior estabilidade da base conjugada formada pela abstração do hidrogênio ligado ao N3, por delocalização da carga

negativa entre as duas carbonilas. A estabilidade das formas tautoméricas das hidantoínas está diretamente relacionada à reatividade do anel hidantoínico. As reações de *N*-alquilação em solventes próticos ou apróticos, por exemplo, ocorrem naturalmente na posição 3 do anel de 5 membros, sendo a obtenção de derivados alquilados na posição N1 realizada apenas através de prévia proteção do nitrogênio da imida, ou do uso de condições de alquilação drásticas em substratos N(3)-substituídos.⁶⁴

Outra propriedade intrínseca das hidantoínas e seus derivados é sua existência em diferentes formas tautoméricas, sendo algumas das formas sugeridas resultantes do tautomerismo amido-imido e o ceto-enólico.⁶³ Embora haja a possibilidade de interconversão desses tautômeros, Ösz *et al.* demonstraram, através de experimentos de RMN de hidantoínas N1- e C5-substituídas, que tais compostos são caracterizados pela forma tautomérica bis-lactâmica **a**, mais estável (Figura 1.19).^{68a} Estudos teóricos sobre a estabilidade das hidantoínas em fase gasosa e em solventes como THF, metanol, DMSO e água também apontam para a estrutura **a** como sendo a mais estável, tanto em fase gasosa como em solução, devido à alta barreira energética relacionada à tautomerização prototrópica intramolecular. Neste estudo, dentre os tautômeros oxo-hidroxil (**b-e**) a estrutura **b** apresentou-se como a mais estável uma vez que a carboxila encontra-se entre N1 e N3, que doam densidade eletrônica para a ligação, deixando-a mais básica e conseqüentemente mais suscetível à captura do próton de N1. Com relação aos isômeros dienóis (**f-h**), a estrutura **h**, derivada da migração dos hidrogênios de N1 e N3, sendo a mais estável.^{68b}

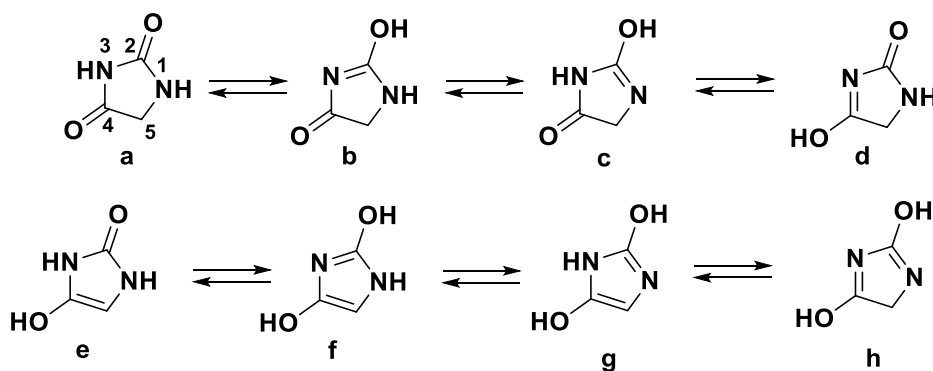
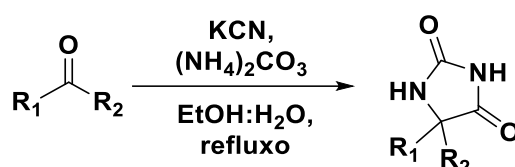


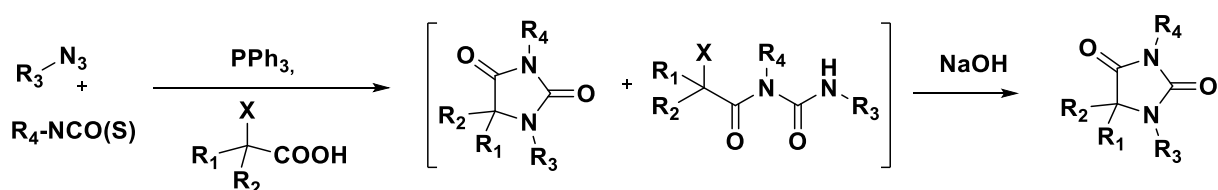
FIGURA 1.19: Possíveis estruturas tautoméricas das hidantoínas.

Do ponto de vista sintético, várias metodologias são descritas para obtenção das hidantoínas e seus derivados. Dentre elas, a reação entre compostos carbonílicos, cianeto de potássio e carbonato de amônio, em meio hidro-alcoólico, conhecida como reação de Bucherer-Bergs, é a mais utilizada para obtenção dos compostos 5- e 5,5-dissubstituídos (Esquema 1.11).⁶⁹



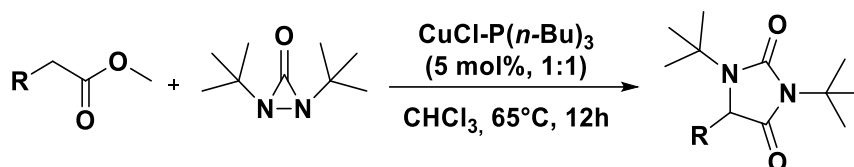
ESQUEMA 1.11: Reação de Bucherer-Bergs para a síntese de hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas.

Para a obtenção das hidantoínas *N*-substituídas, outras abordagens são descritas. Como exemplo, Olimpieri *et al.* descreveram a síntese de hidantoínas 1,3,5- e 1,3,5,5-substituídas a partir da reação entre carbodiimidas e ácidos carboxílicos contendo um halogênio na posição α .⁷⁰ Os autores demonstraram a versatilidade do método com o emprego de carbodiimidas simétricas e assimétricas e ácidos carboxílicos de diferentes reatividades, que resultaram na síntese regioseletiva das hidantoínas de interesse. Além disso, a metodologia foi estendida para uma versão multicomponente, pela formação da carbodiimida *in situ* através da reação de azidas e iso(tio)cianatos, proporcionando maior diversidade estrutural dos heterociclos de interesse (Esquema 1.12).



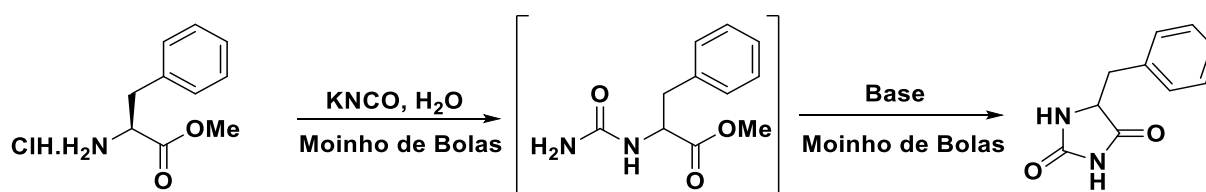
ESQUEMA 1.12: Reação multicomponente a partir de azidas, isocianatos e α -halo ácidos carboxílicos para a síntese de hidantoínas polissubstituídas.

Outra metodologia para obtenção das hidantoínas *N*-substituídas foi descrita por Zhao *et al.*, através da reação entre acrilatos de metila e diaziridinonas catalisadas por Cu (Esquema 1.13).⁷¹



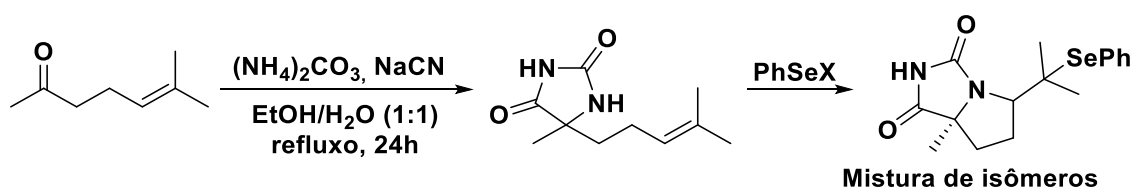
ESQUEMA 1.13: Síntese de hidantoínas 1,3,5-substituídas mediada por Cu.

Geralmente as metodologias empregadas para a síntese das hidantoínas enantiomericamente enriquecidas são baseadas em reações com derivados de aminoácidos e peptídeos. Várias metodologias são descritas em fase sólida⁷² ou em solução⁷³ para obtenção dos produtos enantiopuros. Neste contexto, Konnert *et al.* reportaram a síntese de hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas através da reação de vários amino-ésteres e isocianato de potássio em água, utilizando um reator de moinho de bolas como fonte de energia (Esquema 1.14).⁷⁴



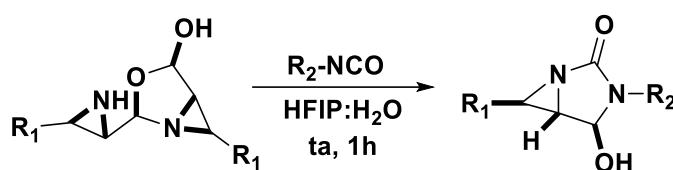
ESQUEMA 1.14: Síntese de hidantoínas 5-substituídas a partir da reação de amino-ésteres e isocianato de potássio utilizando moinho de bolas como fonte de energia.

Nos últimos anos, a síntese de derivados bicíclicos de hidantoínas tem se destacado, visto à atenção voltada para esses compostos na descoberta de novos fármacos e às diversas atividades biológicas que os compostos com anel hidantoinico apresentam.⁷⁵ Neste sentido, Pavlovic *et al.* descreveram a síntese de hidantoínas bicíclicas, a partir da obtenção das hidantoínas precursoras pela reação de Bucherer-Bergs, seguida de reação ciclização intramolecular mediada por selênio (Esquema 1.15).⁷⁶



ESQUEMA 1.15: Síntese de hidantoínas bicíclicas através de ciclização intramolecular mediada por selênio.

Neste contexto, os derivados reduzidos de hidantoínas, que apresentam um anel aziridina fundido ao ciclo planar da hidantoína e uma ligação de amida reduzida, são blocos construtores bastante interessantes, uma vez que através de funcionalizações posteriores diferentes classes de anéis heterocíclicos fundidos podem ser obtidos. Yudin *et al.* descreveram a síntese das hidantoínas reduzidas através de uma reação entre dímeros de amino aldeídos e isocianatos.⁷⁷ No trabalho, os autores exploraram o uso das duas espécies ambifílicas, favorecendo a formação de múltiplas ligações quimiosseletivas em uma única etapa (Esquema 1.16).



Esquema 1.16: Reação entre amino aldeídos e isocianatos para síntese de hidantoínas reduzidas.

1.3 - Sistemas de fluxo contínuo utilizados em síntese orgânica

Apesar da evolução da síntese orgânica nos últimos 30 anos em relação ao desenvolvimento de novas metodologias ou no aperfeiçoamento das técnicas de análise, o uso de balões reacionais e condições de refluxo em óleos vegetais e silicone ainda é uma realidade na maioria dos laboratórios de pesquisa.⁷⁸ No entanto, nas últimas décadas novas tecnologias mais sustentáveis têm sido desenvolvidas para promover reações orgânicas de forma rápida e reprodutível, como a irradiação por micro-ondas,⁷⁹ a mecanoquímica usando moinhos de bolas⁸⁰ e, mais recentemente, os reatores em fluxo contínuo.⁸¹

Neste sentido, a síntese em fluxo contínuo tem sido implementada em diversos laboratórios e é uma alternativa crescente no desenvolvimento de novos processos e no escalonamento de reações.⁸² Entretanto, a aplicação dos reatores de fluxo em síntese orgânica não é trivial, uma vez que para cada reação estudada um sistema deve ser planejado e sua montagem otimizada. De modo geral, tais sistemas são compostos por módulos e acessórios que podem ser divididos em cinco zonas principais: entrada de solvente e reagente, misturadores, reatores, *quenching* e

regulação de pressão. Além disso, zonas de purificação e análise também podem ser integradas aos sistemas (Figura 1.20).⁸³

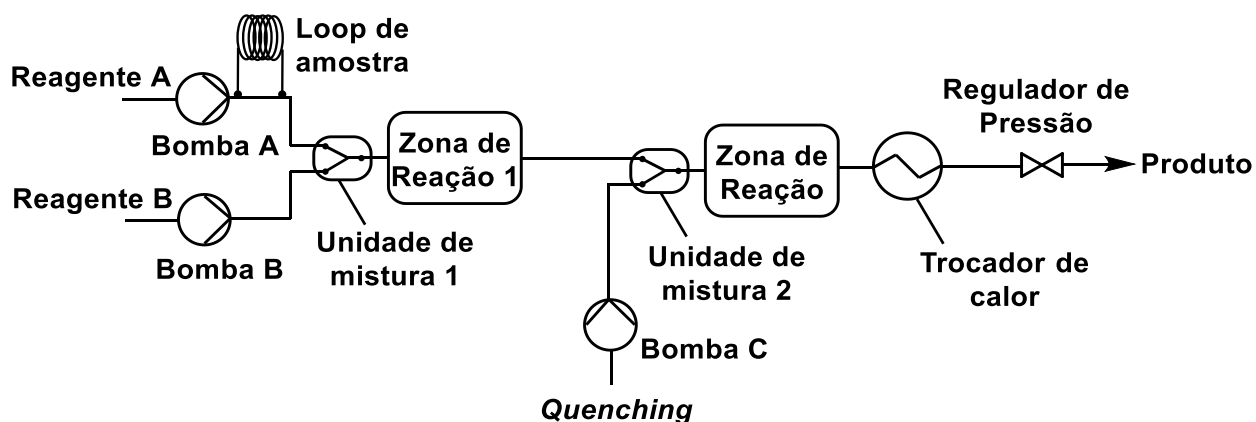


FIGURA 1.20: Diagrama simplificado dos principais componentes de um sistema em fluxo contínuo utilizado em síntese orgânica

A entrada de solventes e reagentes se faz através de bombas de alta pressão, que podem ser de CLAE, bombas-seringa ou peristálticas. A escolha do tipo de bomba a ser utilizada está relacionada à vazão e à precisão do bombeamento necessários para determinado fluido. Além disso, loops de injeção podem ser acoplados a uma ou mais bombas no intuito de introduzir pequenos volumes de misturas reacionais e/ou amostras que contenham reagentes sensíveis à oxigênio, por exemplo.⁸³ Cabe ressaltar que nesses casos, a amostra é colocada no injetor (que pode ser de diferentes tamanhos) e é bombeada diretamente para o reator ou para unidade de mistura, sem passar pelas seringas da bomba. Uma das vantagens em se utilizar o loop de injeção é a garantia da concentração e da estequiometria da mistura reacional e o aumento da vida útil das seringas.

A mistura dos reagentes nas reações em fluxo contínuo é extremamente importante para a eficiência do processo. As unidades de mistura podem ser encontradas em diferentes formatos, sendo os mais comuns os misturadores em T ou Y, capazes de conectar duas ou mais tubulações (Figura 1.21).⁸⁴



FIGURA 1.21: Tipos de misturadores utilizados nas reações em fluxo contínuo.
(Imagem copiada com permissão Copyright 2017, RSC.)

A reação química ocorre nas zonas de reação, e a escolha do reator dependerá da natureza da reação. Os reatores podem ser divididos em três tipos principais: tubulares, microchips e os do tipo cartucho (suporte sólido) (Figura 1.22). Os reatores mais utilizados em reações mono- ou bifásicas são os tubulares, geralmente feitos de polímeros fluorados (PTFE, PFA e FEP), ou aço inox. A escolha do material também depende das características da reação, sendo os reatores tubulares de aço inox mais indicados para reações à altas temperaturas e os de polímeros fluorados para irradiações UV-vis e reações fotoquímicas, por exemplo.⁸³ Além disso, reatores tubulares específicos para reações bifásicas líquido/gás foram desenvolvidos pelo grupo do Prof. Ley e são conhecidos como *tube-in-tube*.⁸⁵

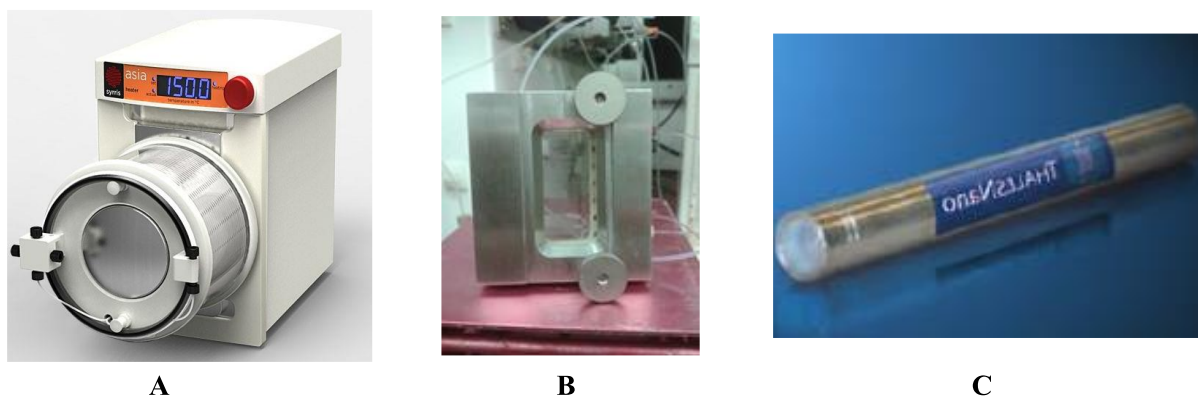


FIGURA 1.22: Exemplos de reatores comerciais utilizados em fluxo contínuo. A: reator tubular, B: microchip, C: reator para fase sólida.

Devido à elevada razão superfície/volume, o microchip, por sua vez, garante a melhor transferência de calor entre todos os reatores. Tais reatores podem ser de vidro, aço inoxidável ou cerâmica.⁸⁶ O grande diferencial dos microchips com relação aos reatores tubulares é a presença de um misturador na entrada do microrreator que garante excelente mistura entre os reagentes, e dispensa a necessidade dos misturadores externos. Sendo assim, esse tipo de reator é indicado para reações térmicas e rápidas, em que a mistura dos reagentes no ponto inicial da

reação é extremamente importante para garantir bons resultados. Entretanto, devido ao pequeno volume dos microchips altas pressões internas podem limitar algumas transformações.⁸⁷

No caso de reações com catalisadores heterogêneos ou reagentes sólidos, estes podem ser imobilizados nos reatores de suporte sólido.⁸⁸ Nesses casos, a mistura reacional passa pelo cartucho, preenchido pelo catalisador e/ou reagente sólido e um reagente inerte, sendo que dois filtros delimitam a zona de reação. Cartuchos de vidro, materiais poliméricos e aço inoxidável são comercializados para as reações em fluxo em fase sólida.⁸³ O principal inconveniente do uso desse reator é a possível lixiviação de catalisadores metálicos imobilizados, que contaminam a mistura reacional e desativam o reator.⁸⁹ Além disso, os compostos da mistura reacional podem ter interações diferentes com o material imobilizado na coluna, e em alguns casos, o “efeito cromatográfico” pode acarretar perda do controle da estequiometria da reação.⁹⁰

Geralmente, uma solução para o *quenching* é adicionada na saída do reator. Essa estratégia garante o monitoramento exato do tempo de reação, e impossibilita que a reação continue se processando no frasco coletor. No caso de reações homogêneas, a reação também pode ser interrompida através do resfriamento da mistura reacional, a partir da conexão de trocadores de calor (tubulações imersas em banho de gelo, por exemplo), logo após a saída do reator.⁹¹

Por fim, os reguladores de pressão são conectados ao final do sistema em fluxo, garantindo pressão constante durante todo o processo. Dois tipos de reguladores de pressão são encontrados comercialmente: cartuchos reguladores de pressões fixas, pré-determinadas, e reguladores de pressão ajustáveis, que podem ser manuseados durante o processo sem que haja a necessidade de interrupção do fluxo (Figura 1.23). Ambas unidades de pressão apresentam como função o controle preciso da vazão e da estequiometria da reação, principalmente na presença de gases uma vez que estes são mantidos em solução.⁹²



FIGURA 1.23: Reguladores de pressão utilizados em síntese contínua. A: cartuchos de pressões pré-definidas da index-hs, B: regulador de pressão ajustável da Swagelok.

1.3.1 – Síntese em batelada vs síntese em fluxo contínuo

Em um recente artigo de revisão publicado pelo grupo do Professor Seeberger, os conceitos, princípios, aplicação e comparação do uso de reatores em fluxo contínuo e da síntese em batelada em escala laboratorial foram discutidos. Dentre as questões levantadas para a escolha do método a ser utilizado, destacam-se o tempo gasto no desenvolvimento de metodologias em fluxo, questões de segurança, performance de reações multifásicas, heterogêneas e fotoquímicas, seletividade e tempo reacional.⁸³ Nesta seção, alguns desses tópicos serão apresentados.

Uma das motivações para a síntese em fluxo de compostos orgânicos está relacionada à necessidade de escalonamento das reações.⁹¹ O aumento da escala de reações em batelada pode ser acompanhado por perdas na eficiência, rendimento e seletividade das mesmas, devido principalmente à diminuição da eficiência da transferência de energia.⁸¹ Neste contexto, os processos contínuos têm como vantagem a maior facilidade do escalonamento reacional, através do uso de vários sistemas em paralelo, muitas vezes sem que haja a necessidade de reotimização das condições reacionais e/ou perda significativa da eficiência do processo.⁹¹

A melhoria na transferência de energia característica dos reatores em fluxo está relacionada à maior superfície por volume que estes apresentam, gerando gradientes de temperatura significativamente menores daqueles encontrados em reações em batelada. Desta forma, o aquecimento e resfriamento da mistura reacional se faz rapidamente na entrada e saída do reator.⁹¹ Dentre as vantagens da eficiente

transferência de energia dos reatores contínuos, destacam-se a possibilidade de condução segura de reações exotérmicas e a melhoria da seletividade de algumas transformações químicas decorrentes da diminuição ou eliminação de reações colaterais de energia similar à reação de interesse.⁸¹

O controle e otimização de “reações rápidas” (com tempo de residência de até 1 minuto) podem ser aprimorados em reatores de fluxo contínuo. Diferentemente dos processos em batelada, em que há a necessidade de resfriamento do balão reacional para o controle do tempo da reação e da reatividade dos compostos, a agitação da mistura reacional nos reatores em fluxo contínuo ocorre de forma rápida, também devido à elevada razão superfície/volume.⁸⁷

Além disso, a possibilidade em se realizar reações em elevadas pressões nos sistemas em fluxo contínuo permite o superaquecimento dos solventes utilizados, garantindo reações em intervalos de tempo menores que aqueles encontrados em reações em batelada, com melhores rendimentos e em alguns casos melhores seletividades.⁹³ Desta forma, a intensificação do processo, isto é, a produção contínua do produto de interesse utilizando reatores de pequeno volume em curtos tempos reacionais é uma das principais características da síntese em fluxo.⁹⁴

Outra situação em que os reatores em fluxo apresentam benefícios em relação às metodologias convencionais está relacionada ao emprego e geração de compostos tóxicos e instáveis. As chamadas reações perigosas podem ser conduzidas de forma mais segura em sistemas de fluxo contínuo, pressurizados e fechados, uma vez que desta forma as espécies reativas são geradas *in situ*, e o *quenching* da reação pode ser feito *in-line*. Além disso, os estudos sistemáticos podem ser realizados em microchips empregando menores quantidades dos reagentes tóxicos.⁹¹

Com relação às reações multifásicas, em que solventes imiscíveis são utilizados e/ou em que reagentes gasosos estão presentes, estas geralmente são mais eficientes em fluxo contínuo.⁸³ As reações líquido-líquido, quando realizadas em reatores contínuos apresentam como vantagem maior dispersão entre as fases, proporcionada pelos misturadores de pequeno volume, e conseqüentemente à maior superfície de contato entre os reagentes.⁹⁵ Analogamente, o uso dos reatores contínuos em reações bifásicas líquido/gás garante melhores rendimentos e seletividades pelo consumo da quantidade total do gás adicionada à mistura reacional,

sem que haja despreendimento do reagente como geralmente ocorre nas reações em batelada, devido ao *headspace* encontrado nos balões e vials.^{82b}

Com respeito ao estudo de novas reações, a otimização de parâmetros como estequiometria da reação, solventes, quantidade de catalisadores e/ou aditivos e temperatura, é realizada de forma mais rápida em batelada, devido à possibilidade de variar um mesmo parâmetro concomitantemente. Em contrapartida, no fluxo contínuo a avaliação dos parâmetros reacionais deve ser realizada de forma sequencial.⁸³

A grande limitação da aplicação dos reatores em fluxo contínuo em síntese orgânica, entretanto, está relacionada às reações em que há formação de produtos, sais ou subprodutos insolúveis ao meio reacional, ocasionando o entupimento dos reatores, misturadores e reguladores de pressão. Com exceção das metodologias que empregam catalisadores heterogêneos, que podem ser imobilizados nos reatores de fase sólida, as metodologias em batelada se apresentam como as mais adequadas aos casos de formação de precipitados de quaisquer naturezas.⁹⁶ Analogamente, as reações que se processam em suspensões não são indicadas para serem realizadas em fluxo contínuo, visto a dificuldade em se manter a estequiometria exata dos reagentes pouco solúveis.⁸³

Ao longo dos últimos anos, inúmeras reações químicas, tanto conhecidas quanto inéditas, foram publicadas em fluxo contínuo. Reações de acoplamento mediadas por Pd,⁹⁷ síntese de heterociclos,⁹⁸ reações utilizando diazometano⁹⁹ e monóxido de carbono,¹⁰⁰ reações com organometálicos,¹⁰¹ organocatalisadas¹⁰² e biocatalisadas,¹⁰³ trifluormetilação de arenos e heteroarenos,¹⁰⁴ processos que utilizam catálise heterogênea em reatores de fase sólida¹⁰⁵ e funcionalização C-H mediada por fotocatalise,¹⁰⁶ são alguns exemplos do vasto escopo de transformações químicas descritas recentemente.

1.3.2 – Aplicação da síntese em fluxo contínuo nas indústrias farmacêuticas

Considerando os 12 princípios da Química Verde, criados por Anastas e Warner em 1998,¹⁰⁷ várias características dos processos químicos foram revisadas no intuito de torná-los mais sustentáveis.¹⁰⁸ Dentre elas, destacam-se a necessidade do planejamento de reações com maior economia atômica e mais seguras, o uso de

reagentes de fonte renovável, o aumento da eficiência energética e a diminuição de resíduos.¹⁰⁹

Neste contexto, a síntese em fluxo contínuo apresenta-se como uma ferramenta importante na busca pelo aumento da sustentabilidade desses processos, tanto em escala acadêmica como industrial.¹⁰⁹ Especificamente nas indústrias farmacêuticas, em que os ingredientes farmacêuticos ativos (IFA) são obtidos através de várias etapas reacionais, além das etapas de separação e purificação, o uso de reatores de fluxo contínuo desenhados especificamente para o protocolo multi-etapas proporciona melhores rendimentos químicos, seletividades, produtividade e diminuição de resíduos.¹¹⁰

A diminuição dos resíduos na síntese em fluxo contínuo está relacionada à possibilidade de se trabalhar em concentrações elevadas e/ou com metodologias sem solventes. Além disso várias etapas reacionais podem ser realizadas sem que haja a necessidade de purificação de intermediários utilizando-se reatores acoplados em paralelo. Desta forma, a síntese em fluxo possibilita a melhoria de algumas métricas desenvolvidas para a quantificação e controle da sustentabilidade do processo, tais como o fator E e a economia atômica da reação. Outras métricas que estão relacionadas à eficiência do processo, tais como PMI (do inglês, *Process Mass Intensity*), e RME (do inglês, *Reaction Mass Efficiency*) também são afetadas positivamente pelos processos contínuos.¹¹¹

A implementação dos reatores em fluxo contínuo na síntese de um IFA apresenta benefícios tanto em relação à maior facilidade de escalonamento do processo como também nas fases iniciais do descobrimento de novos fármacos.¹¹⁰ Além disso, a implementação de reatores em fluxo na indústria apresenta benefícios econômicos devido aos menores custos de fabricação e operação pela diminuição das etapas de separação e purificação de intermediários, pelo menor gasto com solventes e pela maior produção/tempo.¹¹²

Atualmente, várias indústrias farmacêuticas e grupos de pesquisa acadêmicos estão explorando os benefícios que os sistemas em fluxo podem proporcionar na síntese de blocos construtores e de ingredientes farmacêuticos ativos.^{110,112,113} Em 2013, por exemplo, pesquisadores da Novartis e do MIT *Center of Continuous Manufacturing* desenvolveram o primeiro processo de fabricação do anti-hipertensivo Aliskiren (Tekturna®), totalmente em fluxo contínuo.¹¹⁴ A síntese dos intermediários, bem como todas as etapas de extração, separação, cristalização,

secagem e formulação do fármaco foram realizadas sem interrupção através de processos contínuos (Figura 1.24). A partir desta planta, de aproximadamente 15 m², foram produzidas 2,7 x 10⁶ cápsulas por ano do medicamento. Com relação à eficiência do protocolo desenvolvido, os autores compararam a produção em fluxo contínuo com o processo em batelada previamente utilizado, e relataram a diminuição das operações unitárias de 21 para 14, e a diminuição do tempo de residência para 47 horas comparado à cerca de 300 h do processo em batelada.¹¹⁴

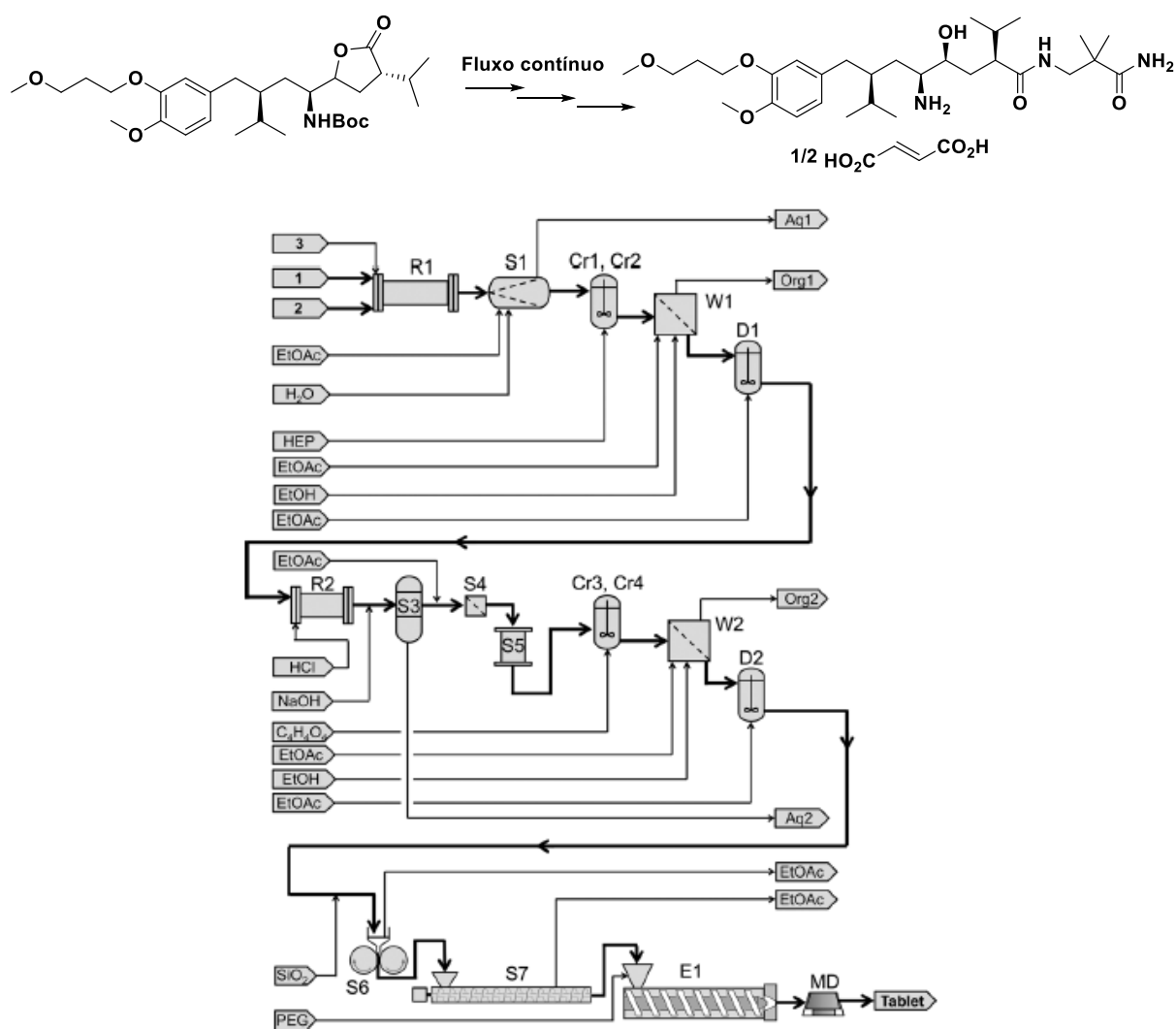


FIGURA 1.24: Diagrama representativo das principais operações unitárias da síntese “end-to-end” em fluxo contínuo do fármaco Aliskiren, desenvolvido pela Novartis. R: reator, S: separação, Cr: cristalização, W: filtração/lavagem, D: diluição, E: extrusão, MD: moldagem (Imagem copiada com permissão Copyright 2008, Wiley-VCH).

Com base no exposto na seção 1.3, fica evidente a contribuição da química em fluxo no desenvolvimento de processos mais sustentáveis, através da aplicação de novas metodologias e do aprimoramento de protocolos previamente realizados em batelada, tanto à nível acadêmico quanto industrial.

Objetivos

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivos Gerais:

Esse trabalho teve como objetivos gerais a síntese e avaliação da atividade inibitória de compostos *N*- e *O*-heterocíclicos frente a enzima acetilcolinesterase utilizando ensaios biológicos com biorreatores imobilizados.

2.2 - Objetivos Específicos:

- ✓ Síntese organocatalisada de piranocumarinas e aplicação desses blocos construtores em reações multicomponentes;
- ✓ Aprimoramento de metodologias sintéticas para a síntese de hidantoínas reduzidas quirais, a partir de reação de aziridinação organocatalisada;
- ✓ Estudo e desenvolvimento de metodologias alternativas para a síntese de hidantoínas e compostos trifluormetilados em reatores de fluxo contínuo, levando em consideração os princípios da Química Verde;
- ✓ Síntese de compostos híbridos de cumarinas e hidantoínas para continuidade do estudo da relação estrutura-atividade de cumarinas substituídas.

Resultados e Discussão

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Síntese assimétrica de piranocumarinas e derivados

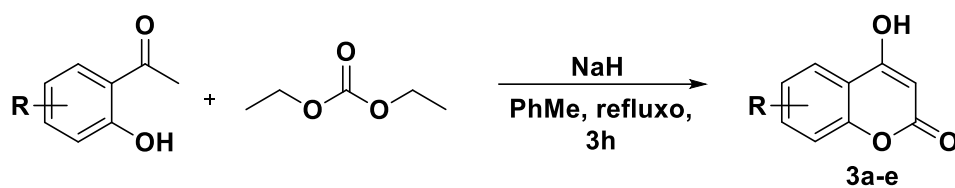
Tendo em vista os resultados promissores descritos para a piranocumarina decursina,¹⁸ e na busca por novos inibidores da AChE, planejamos a síntese assimétrica de diidropiranocumarinas. A funcionalização do hemiacetal para obtenção de uma série de compostos com diversidade estrutural e avaliação do potencial de inibição enzimática dos mesmos permitiu o estudo da relação estrutura-atividade.

3.1.1 - Síntese das 4-hidroxi-2H-cromen-2-onas

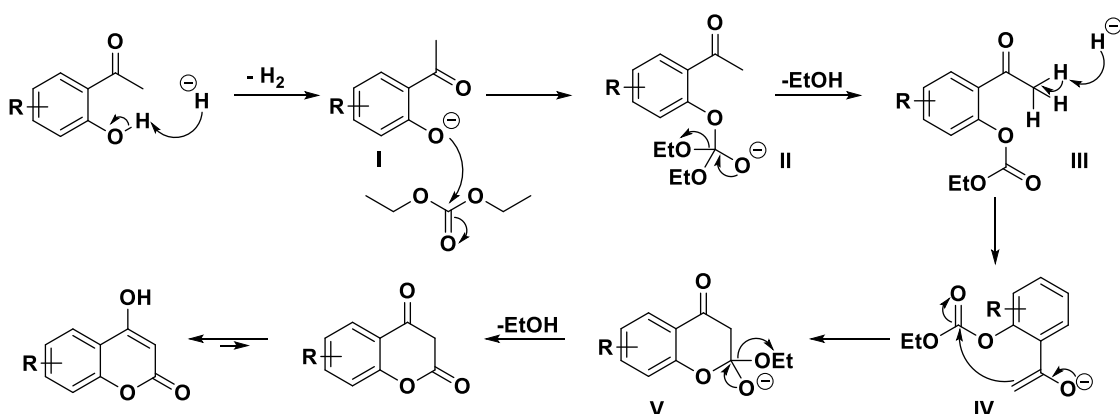
Várias metodologias são descritas para a síntese das 4-hidroxicumarinas. As reações de Friedel-Crafts entre ácido malônico e fenóis na presença de ácidos de Lewis e POCl₃ foram utilizadas até recentemente para a síntese desses compostos.¹¹⁵ Entretanto, dentre as metodologias alternativas ao uso de cloreto de fosforila, destacam-se as reações *one-pot* entre fenóis, ácido de Meldrum e o reagente de Eaton¹¹⁶ e as reações de adição nucleofílica de hidroxiacetofenonas à carbonato de dietila.¹¹⁷ Neste trabalho, foi utilizada a metodologia descrita por Zhao *et al.*, em que as 2-hidroxiacetofenonas e o carbonato de dietila reagem em refluxo de tolueno na presença de NaH.¹¹⁸ Desta forma, foram sintetizados cinco hidroxycumarinas como materiais de partida para a obtenção das diidropiranocumarinas, em bons a excelentes rendimentos (Tabela 3.1).

Do ponto de vista mecanístico, foi proposto que a reação se processa primeiramente através da adição nucleofílica do fenolato à carboxila do carbonato de dietila, levando à formação de um intermediário tetraédrico **II**. A reação prossegue com saída de etanol e posterior ataque nucleofílico do enolato à carboxila do intermediário **IV**. Por fim, a forma enólica da hidroxycumarina formada é mais favorável que o tautômero ceto devido à conjugação dos anéis fundidos (Esquema 3.1).

TABELA 3.1: Rendimentos obtidos na síntese das 4-hidroxicumarinas



Composto	Estrutura	Rendimento (%)
3a		83
3b		93
3c		90
3d		67
3e		75

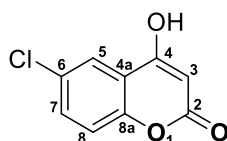


ESQUEMA 3.1: Proposta mecânica para a formação das 4-hidroxicumarinas

Os compostos **3a-e** foram caracterizados por RMN ^1H e ^{13}C e IV. Nos espectros de RMN ^1H destacam-se a presença de um singlete na faixa de δ 5,60 –

5,70 ppm, referente ao hidrogênio ligado ao carbono 3 do anel cumarínico, α à carboxila do anel. Para o composto **3b**, por exemplo, o hidrogênio em C3 aparece como um singlete em δ 5,75 ppm. Com relação ao espectro de RMN ^{13}C do mesmo composto, os carbonos C3 e C4 têm deslocamentos químicos iguais a δ 91,7, 161,5 ppm, respectivamente. A formação do composto bicíclico é também caracterizada pelos sinais em δ 152,11 (C8a) e δ 117,42 ppm (C4a), referentes aos dois carbonos de junção de anel (Tabela 3.2).

TABELA 3.2: Dados espectroscópicos do composto **3b**



Posição	^1H : δ (ppm), J (Hz)	^{13}C
2	-	164,6
3	5,75 (s)	91,7
4	-	161,5
4a	-	117,4
5	7,75 (d, 2,5)	122,3
6	-	132,3
7	7,67 (dd, 2,5, 8,8)	127,9
8	7,4 (d, 8,8)	118,5
8a	-	152,3

No espectro de IV do composto **3c**, por exemplo, é possível observar uma banda larga em 3483 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação O-H. Além disso, uma banda fina e intensa referente à deformação axial da ligação C=O do anel é observada em 1716 cm^{-1} . O estiramento da ligação C-Br, neste exemplo, é atribuído às bandas em 634 e 567 cm^{-1} . No caso do composto **3b**, a banda referente ao estiramento C-Cl aparece em 831 e 817 cm^{-1} . Cabe ressaltar que a diferença de comprimento de onda de uma ligação C-X (X = halogênio), se dá em relação à frequência de vibração. Sendo assim, a frequência da vibração diminui com o aumento da massa do átomo ligado ao carbono, e conseqüentemente os números de onda ficam menores.

3.1.2 - Síntese assimétrica das 2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-c]-cromen-5(2H)-onas (4a-i)

O planejamento de metodologias baseadas nos princípios da química verde, que visam à síntese de compostos enantiomericamente enriquecidos através do emprego de fontes alternativas de energia, do uso de (organo)catalisadores e de solventes menos agressivos se faz necessário, tanto para o *design* e obtenção de compostos bioativos, quanto para a descoberta de novos modos de ativação de catalisadores. Também é importante para o desenvolvimento de novas rotas sintéticas que visem a diminuição das etapas reacionais, e conseqüentemente, a geração de resíduos.¹⁰⁷

Neste contexto, em 2012, foram desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa catalisadores derivados da prolina análogos ao catalisador de Jørgensen–Hayashi, contendo cadeias alifáticas como substituintes nos anéis aromáticos em detrimento dos grupos fortemente elétron-retiradores presentes no catalisador comercial. Essa modificação foi baseada no propósito de se utilizar solventes alternativos ao diclorometano, tolueno e clorofórmio, amplamente empregados em reações em que o catalisador de Jørgensen–Hayashi é utilizado. A princípio, os organocatalisadores desenvolvidos (Figura 3.1) foram avaliados, com sucesso, em reações de epoxidação¹¹⁹ e reações de adição conjugada 1,4 na presença de água e etanol como solventes.¹²⁰

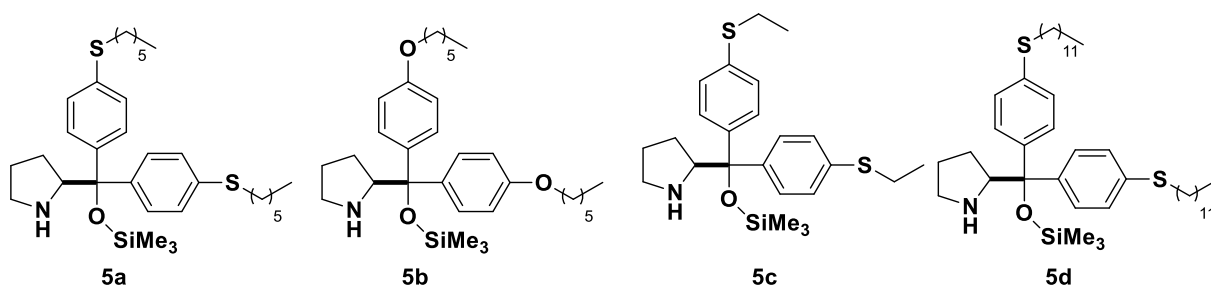
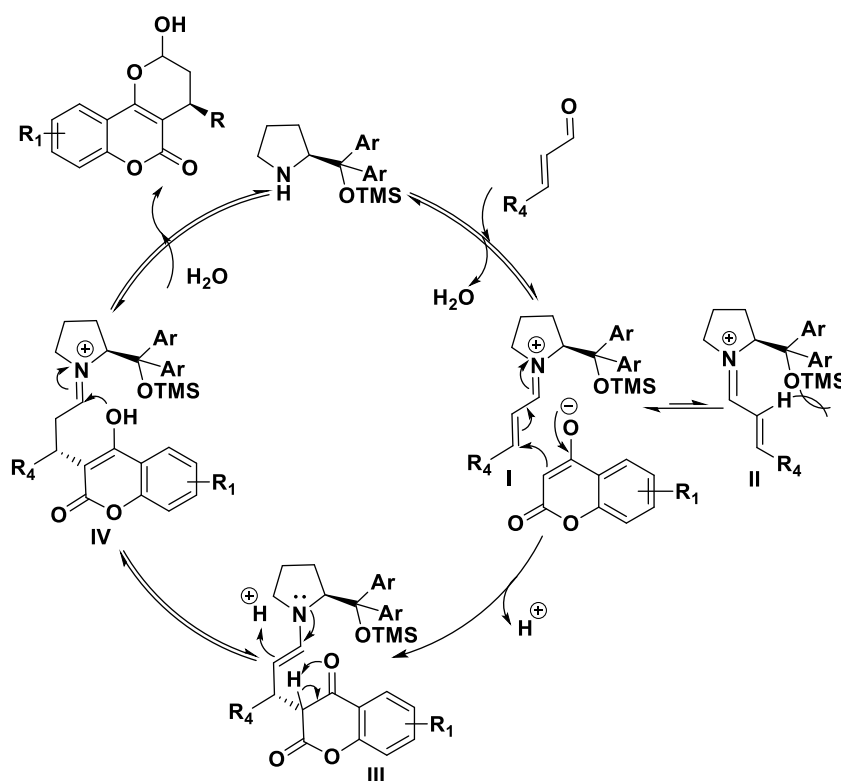


FIGURA 3.1: Nova classe de organocatalisadores derivados da prolina.¹¹⁹

Com base nos resultados promissores dessa nova classe de organocatalisadores, e tendo em vista os resultados previamente publicados sobre a

síntese assimétrica de piranocumarinas,⁶¹ foi realizada a síntese desses compostos utilizando os novos catalisadores.

O mecanismo reacional proposto para essa transformação está em concordância com os ciclos catalíticos descritos para as adições conjugadas na presença de aminocatalisadores derivados da prolina.⁵⁸ A princípio, deve ocorrer a formação do íon imínium **I** pela adição do aldeído α,β -insaturado à amina secundária do organocatalisador, com consequente liberação de água. A formação preferencial íon imínium de geometria *E,E* é explicada pelo maior impedimento estérico gerado entre os grupos aril do organocatalisador e o hidrogênio α ao íon imínium de geometria *Z,E*. Sendo assim, a indução assimétrica é controlada por essa geometria, permitindo o ataque nucleofílico pelo lado oposto ao grupo volumoso do catalisador.^{121,122} Desta forma, o ataque do nucleófilo no carbono β do íon imínium **I** ocorre pela face *Re*, e leva à formação da enamina funcionalizada **III**. Por fim, ocorre uma ciclização intramolecular, seguida da hidrólise e regeneração do organocatalisador, resultando na formação do produto desejado (Esquema 3.2).



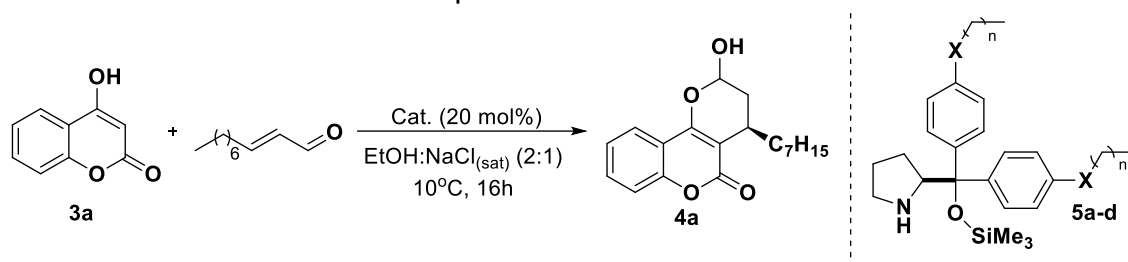
ESQUEMA 3.2: Ciclo catalítico descrito para a formação das piranocumarinas *via* aminocatálise.¹²²

A princípio, quatro organocatalisadores (**5a-d**, 20 mol%) previamente descritos pelo nosso grupo foram avaliados na reação modelo entre o composto **3a** e

o *trans*-2-decenal, utilizando como solvente etanol: NaCl_(sat) (2:1) em 16 horas à 10 °C (Tabela 3.3).

O organocatalisador em que X = S e n = 5 (**5a**) foi o mais eficiente, resultando no produto desejado com rendimento igual a 91% e 74% de excesso enantiomérico (Tabela 3.3, Entrada 1). Em seguida, o melhor organocatalisador foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita por Paixão *et al.*, em cinco etapas reacionais e com rendimento global de 21%. O composto **5a** foi caracterizado por RMN ¹H e ¹³C, e os dados obtidos foram comparados com os reportados na literatura.¹¹⁹

TABELA 3.3: Organocatalisadores avaliados na reação modelo para a síntese das piranocumarinas



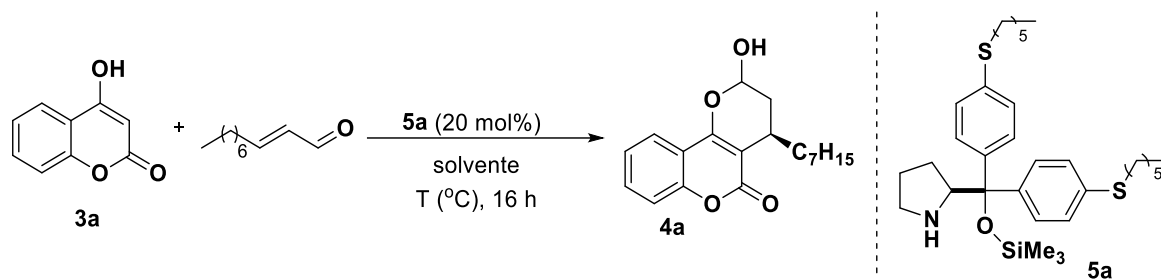
Entrada	Organocatalisador	Rendimento (%)	ee (%)
1	X = S, n = 5 (5a)	91	74
2	X = O, n = 5 (5b)	83	61
3	X = S, n = 1 (5c)	93	62
4	X = S, n = 11 (5d)	89	71

Após a devida caracterização de **5a**, a reação entre o composto **3a**, *trans*-2-decenal, 20 mol% deste organocatalisador e 20 mol% de ácido benzóico foi estudada em diferentes solventes práticos (Tabela 3.4, Entradas 1-5). Entretanto, nenhum dos sistemas de solventes foi melhor que a mistura etanol:NaCl_(sat) (2:1) (Tabela 3.4, Entrada 1).

Normalmente, co-catalisadores como o ácido benzóico (PhCO₂H) aceleram a formação dos intermediários reativos íon imínium/enamina, ativam substratos e auxiliam na formação do produto e na regeneração do ciclo catalítico de reações organocatalisadas. Sendo assim, a presença desses compostos pode influenciar positivamente na reatividade de substratos, e na diastereo- e enantiosseletividade dos produtos formados.¹²³ No caso da reação estudada, entretanto, observou-se que a ausência do ácido benzóico no meio reacional não

alterou de forma significativa os rendimentos e excessos enantioméricos (Tabela 3.4, Entrada 6).

TABELA 3.4: Otimização das condições reacionais para a síntese das piranocumarinas



Entrada	Solvente	T (°C)	Co-cat.	Rend. (%)	ee (%)
1 ^{a,b}	EtOH: NaCl (2:1)	10	PhCO ₂ H	91	74
2 ^{a,b}	EtOH	10	PhCO ₂ H	74	72
3 ^{a,b}	NaCl: EtOH (3:1)	10	PhCO ₂ H	40	68
4 ^{a,b}	H ₂ O: EtOH (3:1)	10	PhCO ₂ H	53	66
5 ^{a,b}	Glicerol: EtOH (3:1)	10	PhCO ₂ H	68	64
6 ^c	EtOH: NaCl (2:1)	10	-	88	78
7 ^a	EtOH: NaCl (2:1)	20	-	81	76
8 ^a	EtOH: NaCl (2:1)	-10	-	80	79
9 ^c	EtOH: NaCl (2:1)	10	-	60	69
10 ^a	EtOH: NaBr (2:1)	10	-	35	68
11 ^d	EtOH: NaCl (2:1)	10	-	67	66
12 ^e	EtOH: NaCl (2:1)	10	-	50	56

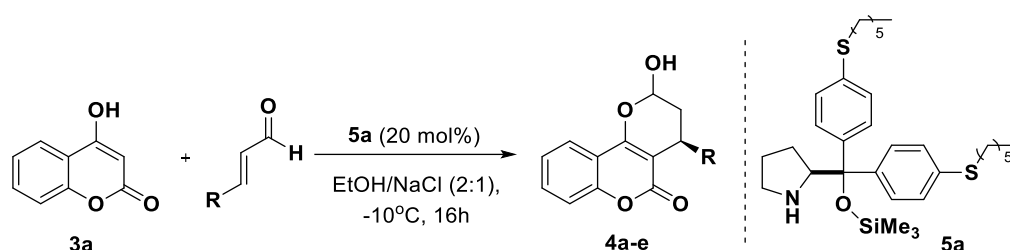
^a Reações realizadas com 20 mol% de co-catalisador. ^b Concentração da reação igual a 0,7M. ^c Reação realizada em concentração de 0,15M. ^d Reação realizada com 10 mol% de organocatalisador. ^e Reação realizada com 5 mol% de organocatalisador.

O segundo parâmetro avaliado foi a temperatura da reação. As reações a -10°C e 20°C resultaram em excessos enantioméricos similares, embora tenha sido constatado um pequeno decréscimo nos rendimentos dessas duas reações, quando comparado com a reação realizada a 10°C (Tabela 3.4, Entradas 6, 7, 8). Na tentativa de promover a reação de forma mais seletiva, a concentração da reação foi modificada para 0,15M. Entretanto, não foram obtidos resultados positivos com a diluição (Tabela 3.4, Entrada 9). Observou-se também que a mudança do contra-íon da solução salina para Br diminuiu significativamente o rendimento e o excesso da reação (Tabela 3.4,

Entrada 10). Por fim, a quantidade de organocatalisador foi avaliada, sendo que a sua diminuição acarretou perdas significativas tanto no rendimento quanto na seletividade da reação (Tabela 3.4, Entradas 11 e 12).

Após a sistemática otimização das condições reacionais, foram preparadas cinco piranocumarinas derivadas da 4-hidroxicumarina **3a** (Tabela 3.5).

TABELA 3.5: Piranocumarinas sintetizadas através da reação de Michael organocatalisada



Entrada	Composto	Estrutura	Rendimento (%)	ee (%)
1	4a		80	79
2	4b		55	71
3	4c		75	70
4	4d		41	66
5	4e		99	73

A reação se mostrou tolerante aos aldeídos α,β -insaturados alifáticos testados, obtendo-se os produtos de interesse em bons a excelentes rendimentos e excessos enantioméricos de moderados a bons. Entretanto, a piranocumarina derivada da reação da 4-hidroxicumarina com o *trans*-cinamaldeído não foi obtida.

Cabe ressaltar que a síntese desse composto é descrita com o uso do organocatalisador de Jørgensen-Hayashi e diclorometano em 41% de rendimento.⁶¹ Provavelmente, no caso do derivado aromático testado, o solvente polar prótico deve influenciar a ciclização intramolecular de forma negativa.

A fonte de energia também foi avaliada durante a otimização da reação. Embora os reatores de micro-ondas sejam amplamente utilizados na síntese de compostos orgânicos, as justificativas de como as micro-ondas participam das reações, proporcionando melhores rendimentos, seletividades e menores tempos reacionais que as reações realizadas sob aquecimento convencional, ainda são debatidas no meio acadêmico. A partir do trabalho seminal do grupo do Professor Kappe, em 2000, em que foi descrita a comparação de resultados para a reação multicomponente de Biginelli através de aquecimento convencional e da irradiação de micro-ondas,¹²⁴ a existência de efeitos específicos das micro-ondas, chamados de efeitos não-termois, foi contestada.¹²⁵

De modo geral, esse efeito é definido como resultado de interações diretas entre o campo elétrico gerado pelas micro-ondas e componentes específicos presentes no meio reacional, não sendo relacionadas a nenhum efeito térmico. Teoricamente, a presença do campo elétrico modifica a orientação de moléculas dipolares, levando à consequente alteração do fator A ou do fator entrópico da equação de Arrhenius para certos tipos de reação.^{125g} Por outro lado, defensores da inexistência do efeito não-termois, afirmam que o aumento da eficiência da reação em micro-ondas é resultado unicamente de efeitos térmicos/cinéticos. Uma vez que as reações em micro-ondas são realizadas, em sua maioria, em tubos fechados, temperaturas acima do ponto de ebulição do solvente são alcançadas em curto espaço de tempo, favorecendo a formação do produto em menores tempos reacionais, e em alguns casos, diminuindo a formação de subprodutos.^{125a}

Apesar do debate envolvendo a existência ou não dos efeitos específicos das micro-ondas perdurar por mais de dez anos, estudos baseados na afirmação da diferenciação da energia das micro-ondas e da energia proveniente do aquecimento convencional ainda são publicados. Como exemplo, várias metodologias têm sido descritas com a utilização de sistemas de resfriamento acoplados aos reatores de micro-ondas.¹²⁶ Nestes casos, a aceleração da reação é justificada como sendo resultado da combinação entre a energia cinética dos reagentes gerada pelas micro-ondas, e o resfriamento simultâneo do reator, que possibilita maior penetração da

energia de micro-ondas no meio reacional pela remoção do excesso de energia latente.^{126f}

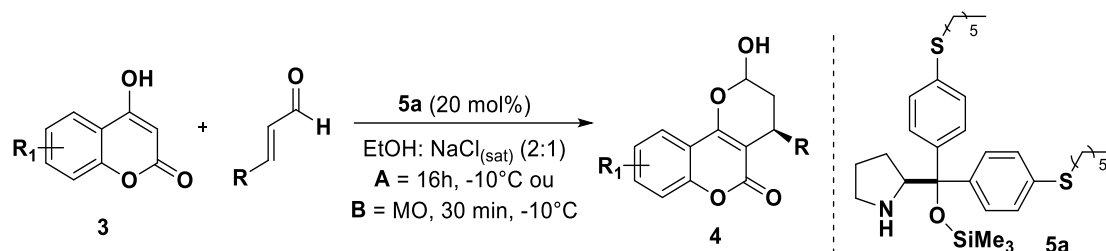
Com base no exposto acima, e com o intuito de otimizar o tempo reacional da reação de Michael organocatalisada, realizou-se a síntese das piranocumarinas em micro-ondas com resfriamento simultâneo. O experimento inicial com o *trans*-2-decenal e a 4-hidroxycumarina usando as condições ótimas previamente obtidas para a metodologia convencional, resultou no produto **4a** com 80% de rendimento e excesso enantiomérico de 72%, em 30 minutos à -10 °C (Tabela 3.6, Entrada 1).

Tendo em vista o decréscimo significativo do tempo reacional que a condição no micro-ondas proporcionou, investigou-se a síntese de piranocumarinas análogas ao composto **4a**, a partir das duas condições reacionais ótimas (Tabela 3.6, Entradas 2 e 3). A similaridade dos resultados obtidos em ambas as condições estudadas foi levada em consideração e, portanto, a síntese das piranocumarinas derivadas de 4-hidroxycumarinas substituídas foi realizada apenas através da condição B (Tabela 3.6, Entradas 4-7).

As diidropiranocumarinas sintetizadas **4a-i** foram caracterizadas por RMN ¹H e ¹³C, IV, e CG-EM. Os excessos enantioméricos foram obtidos por CLAE com coluna quiral AD-H e as atividades óticas determinadas através de um polarímetro. Além da caracterização geral, os compostos inéditos, **4b-d** e **4f-i**, foram submetidos a análise de HRMS (do inglês, *high resolution mass spectrometry*).

Os espectros de massas dos derivados **4**, obtidos através de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM) estão em concordância com as outras técnicas espectroscópicas utilizadas para caracterização dos compostos. Nos exemplos **4f** e **4g** a presença dos halogênios Br e Cl no anel aromático da cumarina alterou a contribuição das intensidades dos picos M+1 e M+2 no conjunto de íons moleculares. Isso se deve à ocorrência dos isótopos naturais desses átomos: para o composto **4f**, que contém Cl na estrutura, a relação entre o pico M+1 e M+2 é de 1:0,3 e para o composto **4g**, essa relação é de 1:1.

TABELA 3.6: Comparação dos resultados obtidos na síntese das piranocumarinas em micro-ondas e com aquecimento convencional

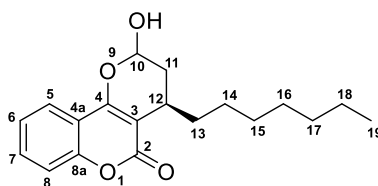


Entrada	Composto	Estrutura	Condição A		Condição B	
			Rend (%)	ee (%)	Rend (%)	ee (%)
1	4a		80	79	80	72
2	4d		41	66	52	75
3	4e		99	73	95	61
4	4f		-	-	69	71
5	4g		-	-	73	71
6	4h		-	-	78	67
7	4i		-	-	83	87

Embora esses compostos apresentem dois centros assimétricos apenas o diastereoisômero majoritário, *cis*, pôde ser identificado nos cromatogramas obtidos por CLAE. Isso é explicado pela troca rápida da configuração do carbono anomérico, que ocorre através do equilíbrio entre a forma fechada (hemiacetal) com a forma aberta (hidroxi-aldeído), dificultando a separação dos quatro estereoisômeros por CLAE.

Em analogia à estereoquímica previamente definida pelo trabalho de Rueping *et al.* por cristalografia de raio X,⁶¹ atribuiu-se configuração absoluta do centro assimétrico em C4 das piranocumarinas **4** como sendo *R*.

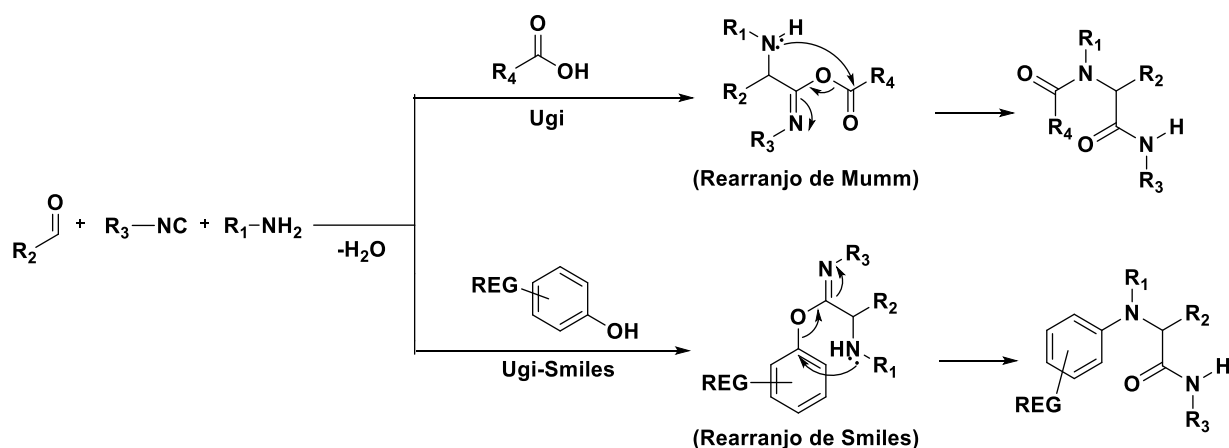
Com relação aos espectros de RMN do composto **4a**, por exemplo, a formação da piranocumarina pôde ser confirmada pela presença do sinal referente ao H12, representado por um multiplete em δ 1,88-1,96 ppm, dos sinais dos hidrogênios metilênicos do anel pirano (H 11) em δ 2,29 ppm (dt) e δ 2,92-2,96 ppm (m) e principalmente pelo duplo dubleto em δ 5,65 ppm, referente ao H10. A formação de dois diastereoisômeros pôde ser observada nos espectros de ¹H e ¹³C de todos os derivados sintetizados. Através do espectro de RMN de ¹³C do composto **4a** foi possível verificar o sinal do C10 em δ 93,9 ppm. Analogamente ao que ocorre nos compostos **3**, os carbonos de junção de anel apresentam deslocamentos químicos bastante diferentes: o C8a apresenta um sinal mais desblindado, devido à proximidade ao átomo eletronegativo, em δ 152,5 ppm, e carbono 4a tem um deslocamento químico de 115,5 ppm (Tabela 3.7).

TABELA 3.7: Dados espectroscópicos do composto **4a**

Posição	RMN ¹ H: δ (ppm), J (Hz)	RMN ¹³ C: δ (ppm)
2	-	163,1
3	-	105,0
4	-	158,6
4a	-	115,5
5	7,77 (dd, 7,9, 1,4)	123,9
6	7,22 (t, 7,60)	122,8
7	7,48 (ddd, 7,10, 1,5)	131,6
8	7,26 (d, 7,9)	116,5
8a	-	152,5
10	5,65 (dd, 9,4, 2,2)	93,9
11	2,29 (dt); 2,92-2,96 (m)	33,9
12	1,88-1,96 (m, 1H)	31,9
13-18	1,88-1,96 (m, 1H); 1,43 – 1,27 (m)	22,7 – 31,8
19	0,88 (t, 6,7)	14,2

3.1.3 - Funcionalização das piranocumarinas através de reações multicomponentes do tipo Ugi-Smiles

O uso das 4-hidroxycumarinas em reações multicomponentes é bastante conhecido, levando à formação de vários derivados, incluindo as piranocumarinas.^{127,128,129,130} Em 2002 e 2005, El Kaïm *et al.* descreveram pela primeira vez o uso de fenóis ao invés de ácidos carboxílicos em reações multicomponentes de Passerini e Ugi.^{131,132} Normalmente, são utilizados fenóis substituídos com grupos elétron-retiradores para esse tipo de reação, e o rearranjo final é denominado rearranjo de Smiles e não rearranjo de Mumm (conhecido para as reações multicomponentes convencionais). Desta forma, estas reações são conhecidas como Ugi-Smiles e Passerini-Smiles. O Esquema 3.3 apresenta as variações da reação de Ugi, quando do uso de ácidos carboxílicos ou fenóis.¹³³



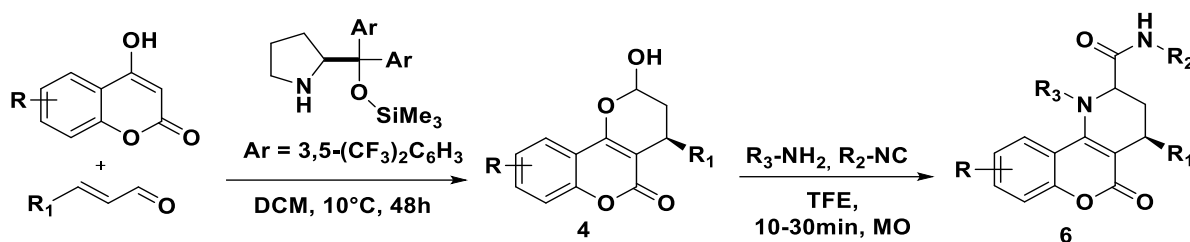
ESQUEMA 3.3: Reação de Ugi e Ugi Smiles.

Com base no exposto acima, e nos trabalhos de El Kaïm *et al.*^{134,135}, nosso grupo de pesquisa iniciou um estudo visando a primeira versão intramolecular da reação do tipo Ugi-Smiles entre compostos contendo funções hemiacetal com aminas e isonitrilas. Inicialmente foi realizada a reação de Michael entre a dimedona e aldeídos α,β -insaturados com o catalisador de Jørgensen–Hayashi.¹³⁶ Os produtos obtidos foram então empregados na reação multicomponente.

O estudo sistemático da reação avaliou parâmetros como solvente, temperatura e o uso de micro-ondas. Apesar de comumente aplicado em MCRs,¹³⁵ o uso de metanol para essa transformação não foi eficiente, visto a formação significativa do subproduto derivado da adição nucleofílica do solvente (1,5:1 produto: subproduto). Cabe ressaltar que a presença do organocatalisador de amina secundária não interferiu na reação multicomponente, visto que não foram detectados subprodutos contendo o aminocatalisador. Após breve avaliação dos parâmetros citados, optou-se por utilizar TFE:DCM (1:1) como solvente, 70 °C e micro-ondas em tempos reacionais entre 10 a 30 minutos. Neste processo sequencial não foi possível utilizar os organocatalisadores de cadeias longas desenvolvidos previamente devido à baixa atividade catalítica dos mesmos em DCM e TFE.

A partir das condições ótimas desenvolvidas, o escopo reacional foi também estudado para as piranocumarinas. De modo geral, a reação se mostrou tolerante a várias aminas e isonitrilas, inclusive àquelas derivadas de peptídeos, açúcares e lipídeos, resultando em hidroquinolinonas e piperidinocumarinas altamente funcionalizadas em bons rendimentos e moderadas a ótimas seletividades. A Tabela 3.8 resume alguns dos produtos obtidos pela metodologia sequencial desenvolvida.

TABELA 3.8: Síntese das piperidinocumarinas através da reação sequencial de Michael/Ugi-Smiles com piranocumarinas

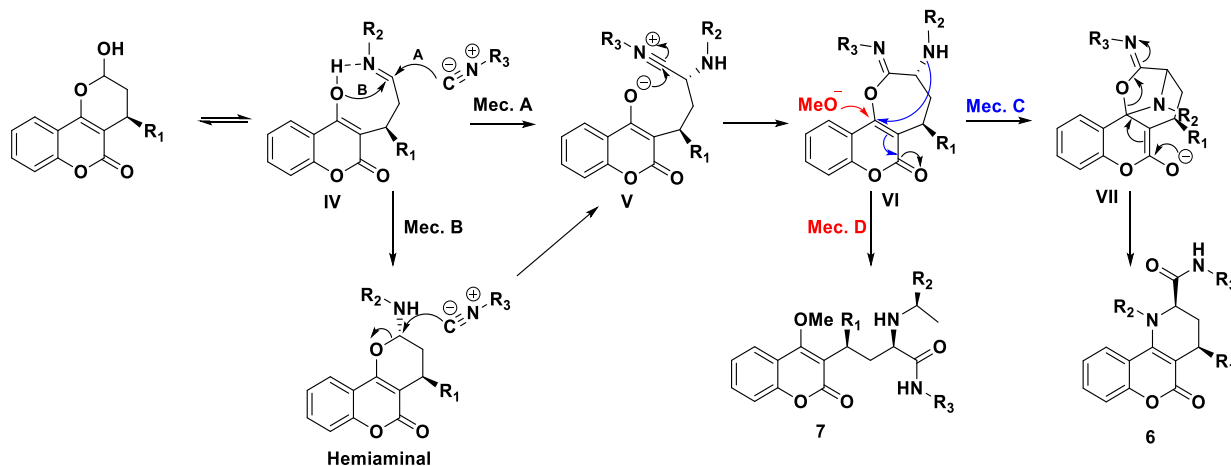


Entrada	Composto	Estrutura	Rend. (%)	ee (%) ^a	rd
1	6a		59	83	67:33
2	6b		59	89	73:27
3	6c		58	96	98:2
4	6d		61	88	95:5

^aExcesso enantiomérico do diastereoisômero majoritário.

Com base no mecanismo proposto, a princípio deve ocorrer a adição nucleofílica da amina primária ao aldeído da forma aberta da piranocumarina, levando a formação da imina **IV** (Esquema 3.4). A diastereosseletividade da reação é governada pelo passo seguinte, que pode ocorrer por dois mecanismos:¹³³ (1) pela adição *cis* da isonitrila à imina **IV** na mesma face do substituinte alquílico R, levando em conta a conformação fixa da imina por ligação de hidrogênio com o enol conjugado ou (2) através da formação de um hemiaminal pelo ataque nucleofílico do enolato ao íon imínium **V**. Em ambos os casos, as subseqüentes etapas levam à formação do intermediário bicíclico **VI** que sofre o rearranjo de Smiles através do ataque nucleofílico da amina ao carbono de junção de anel, levando à formação do intermediário spiro **VII**. A delocalização eletrônica subseqüente restabelece a conjugação da cumarina,

levando a abertura do anel de 5 membros e conseqüentemente ao produto **6**. Cabe ressaltar que o subproduto encontrado na reação com metanol é resultado do ataque nucleofílico do solvente ao C4 do intermediário **VI**, levando ao produto cadeia lateral acíclica **7**.



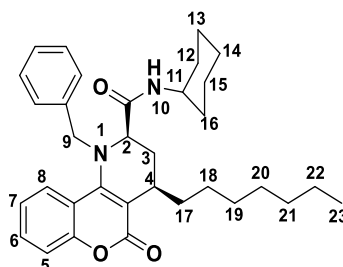
ESQUEMA 3.4: Proposta mecanística das reações do tipo Ugi-Smiles

Através dos espectros de RMN ¹H e dos cromatogramas obtidos por CLAE, foi possível observar que a diastereosseletividade da reação é afetada pela natureza da amina primária envolvida. O uso de aminas não-quirais, como a benzil e *n*-butil amina levaram a formação dos produtos como mistura de diastereoisômeros (Tabela 3.9, Entradas 1-2). Entretanto, o emprego de aminas estericamente impedidas, como as derivadas de peptídeos, resultou em piperidinocumarinas com alta diastereosseletividade (Tabela 3.9, Entradas 3-4). Estudos subsequentes mostraram que aminas não quirais com grupos volumosos, como a *t*-butil amina, também direcionam a formação preferencial de um diastereoisômero. Além disso, o uso de *D*- ou *L*-aminoácidos ou *S*- ou *R*-metil benzil amina proporcionou a obtenção do isômero *cis* majoritariamente. Essas importantes observações confirmam que a estereosseletividade da reação é induzida principalmente pelo impedimento estérico do substituinte α à amina, que pode ser ou não quiral.

Com o intuito de determinar a configuração relativa do novo centro assimétrico formado, com base na configuração pré-definida de C4 por Rueping *et al.* os dois diastereoisômeros do composto **6a** foram isolados por coluna cromatográfica e submetidos às análises de RMN 1D e 2D. Desta forma, foi possível observar acoplamentos entre os hidrogênios do substituinte R na posição C4 e os hidrogênios

do ciclohexil da isonitrila. Além disso, fortes interações entre o NH da amida e o H5 aromático com os hidrogênios da cadeia alquílica em C4 foram determinadas. Esses resultados corroboram com a proposta de adição *cis* da isonitrila à imina ou ao hemiaminal e sugerem que o substituinte C2 apresenta configuração relativa *cis* ao C4. Tais acoplamentos puderam ser observados apenas pela existência das interações 1,3-diaxiais entre os substituintes em questão. Em contraste, correlações entre o hidrogênio ligado ao C2 e hidrogênios do substituinte de C4 foram encontrados nos espectros de noesy do diastereoisômero minoritário, evidenciando uma configuração relativa *trans* entre os substituintes em C2 e C4. Através dessas observações foi possível atribuir os sinais característicos da formação do diastereoisômero majoritário da piperidinocumarina **6a** (Tabela 3.9).

TABELA 3.9: Dados espectroscópicos do composto **6a**



Posição	RMN ¹ H: δ (ppm), J (Hz)	RMN ¹³ C: δ (ppm)
2 e 11	3,73 – 3,68 (m)	58,04 e 47,67
3	2,61 (ap.d, J = 14,1); 1,88-1,86 (m)	29,43
4	2,76-2,73 (m)	30,72
5	7,40–7,33 (m)	117,94
6	7,51 (t, J = 7,1)	128,35
7	7,32-7,26 (m)	124,09
8	7,80 (dd, J = 8,0, 0,7)	127,48
9	4,68 (d, J = 15,8); 4,33 (d, J = 15,8 Hz)	59,63
10	6,58 (d, J = 8,7)	-
12-22	1,61-0,89 (m)	20,34-32,68
23	0,86 (t, J = 6,2)	14,12

3.2 - Síntese assimétrica de hidantoínas e derivados

Tendo em vista a estrutura do composto **LSPN223**, e os relatos sobre o potencial biológico das hidantoínas em doenças neurodegenerativas como

Alzheimer,²¹ propusemos neste trabalho a substituição da piperidina da cadeia no C7 do anel aromático, por derivados de hidantoínas e a avaliação do possível sinergismo entre a cumarina e a hidantoína na inibição da AChE (Figura 3.2).

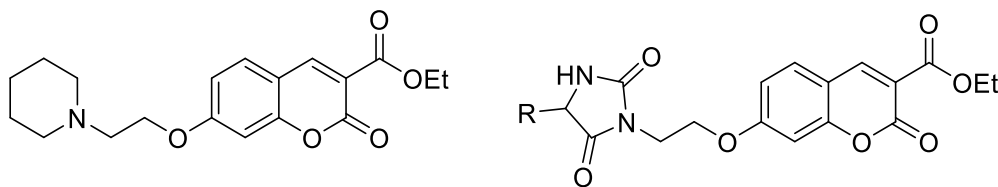
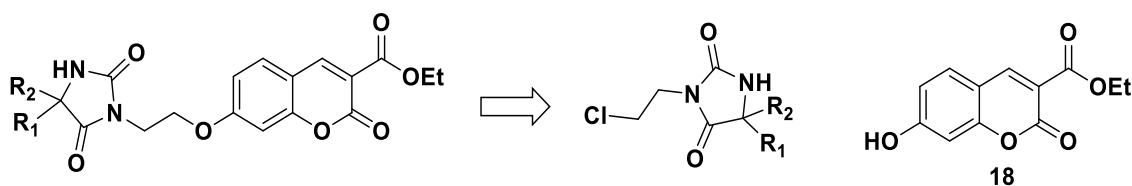


FIGURA 3.2: Cumarina **LSPN223** e análogo contendo hidantoína

Para a preparação deste análogo, foi necessária a síntese de hidantoínas, que foi abordada empregando três diferentes metodologias. Primeiramente, estudou-se as hidantoínas reduzidas através da reação de dímeros de amino aldeídos e isocianatos na presença de hexafluorisopropanol (HFIP) (Sessão 3.2.1). Em seguida, a síntese de hidantoínas 5-substituídas foi realizada através de reações com aminoácidos naturais e isocianatos em meio básico (Sessão 3.2.2). Além disso, outras hidantoínas 5-substituídas e as 5,5-dissubstituídas foram obtidas através da reação de Bucherer-Bergs, sendo que para essa reação, um protocolo em fluxo contínuo foi desenvolvido visando o aprimoramento da metodologia em batelada (Sessões 3.2.3 e 3.2.5).

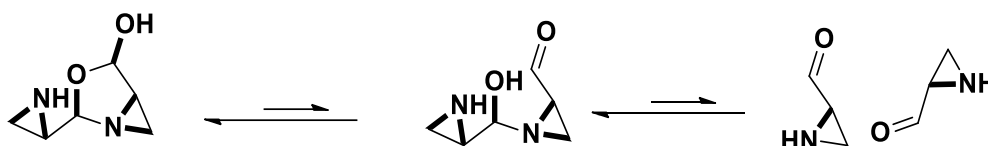
As hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas foram submetidas a reações de substituição S_N2 com a cumarina **18** para a obtenção dos compostos híbridos (Sessões 3.2.2.1 e 3.2.4, Esquema 3.5).



ESQUEMA 3.5: Planejamento retrosintético para obtenção dos híbridos de hidantoínas e cumarinas.

3.2.1 - Síntese das hidantoínas reduzidas

A síntese das hidantoínas reduzidas foi planejada através da metodologia previamente desenvolvida por Cheung *et al.*⁷⁷ O ponto chave dessa metodologia é a obtenção das 2-formil aziridinas, susceptíveis à auto-condensação em pH acima de 5 em uma variedade de solventes. Desta forma, as 2-formil aziridinas são isoladas e caracterizadas como seus dímeros correspondentes (Esquema 3.6).¹³⁷



ESQUEMA 3.6: Equilíbrio das espécies monoméricas e diméricas dos aminoaldeídos.

Estudos cristalográficos revelaram que essa dimerização é estereosseletiva, ou seja, há preferencialmente associação entre dois enantiômeros *S*, por exemplo, pela estabilização por ligação de hidrogênio entre a hidroxila do hemiacetal e o NH livre da aziridina α ao anel de 5 membros.¹⁴² No caso da associação entre enantiômeros *R* e *S*, há uma desestabilização por efeito estérico entre os hidrogênios do metileno do anel aziridina e o hidrogênio do amina (Figura 3.3).

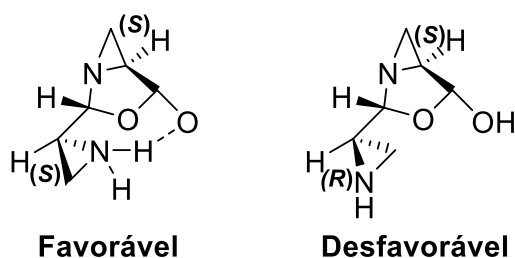
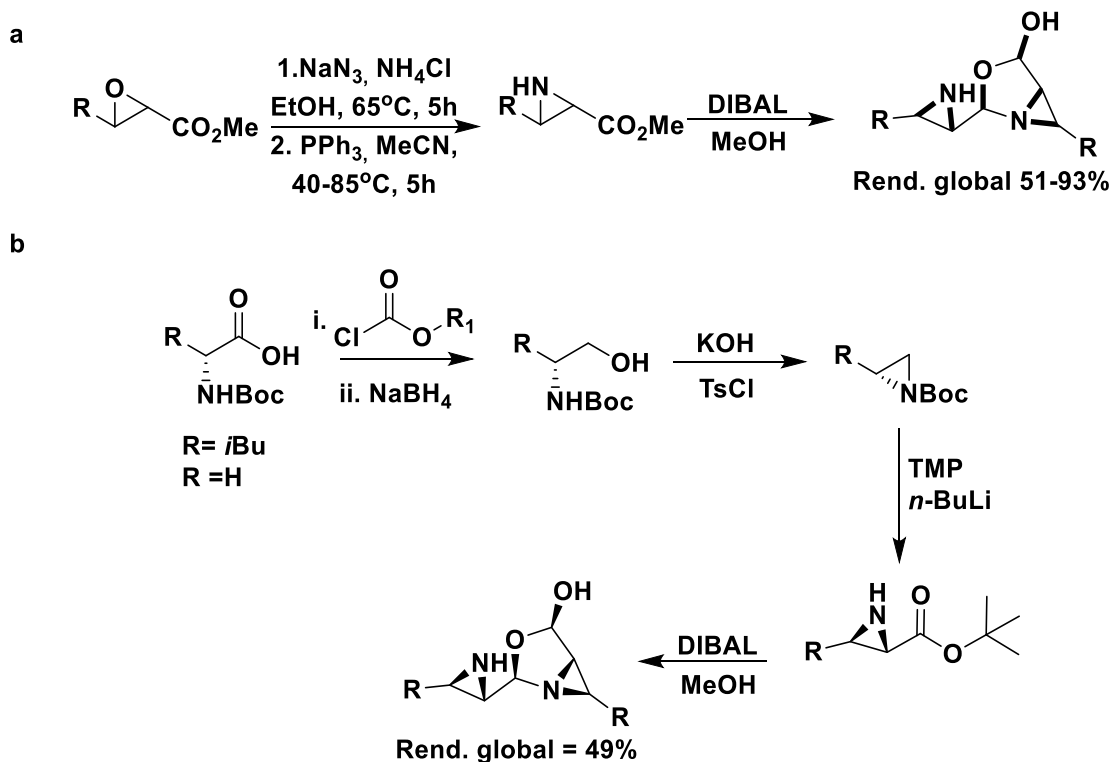


FIGURA 3.3: Estereosseletividade da auto-condensação das 2-formil aziridinas.

Além disso, estudos de RMN descartam a formação do hemiaminal com um anel 6 membros, sugerindo que a formação do hemiacetal de 5 membros é cinética e termodinamicamente favorável. Do ponto de vista sintético, essas espécies

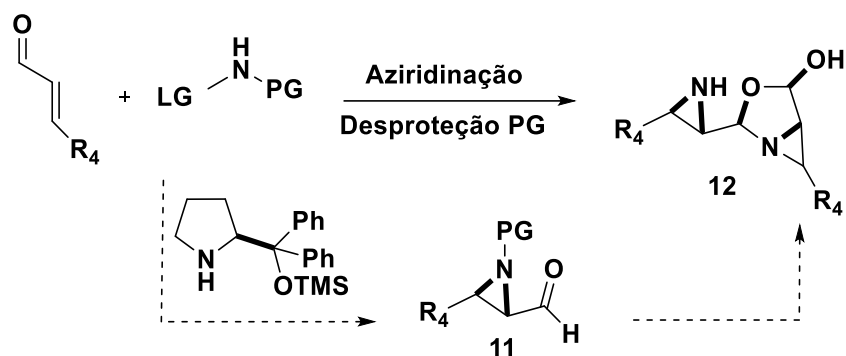
homoquirais são importantes blocos construtores em virtude da natureza nucleofílica da porção aziridina e eletrofílica do aldeído adjacente.¹⁴²

A síntese dos dímeros de aminoaldeídos foi primeiramente descrita por Hili *et al.*, tanto a partir da reação de redução de α -ésteres-aziridinas com DIBAL (Esquema 3.7, a), como através de transformação multi-etapas com aminoácidos naturais, resultando em dímeros enantiomericamente enriquecidos (Esquema 3.7, b).^{137,138}



ESQUEMA 3.7: Rotas sintéticas descritas para obtenção dos dímeros de aziridina-aldeído

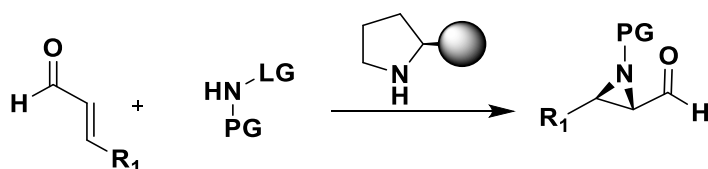
Na tentativa de otimizar a metodologia para a síntese dos dímeros, e desta forma, minimizar etapas de purificação de intermediários e o uso de reagentes como clorofornatos de alquila, *n*-BuLi e DIBAL, foi proposta uma rota sintética alternativa para a formação dos mesmos. Para tal, planejou-se uma reação de aziridinação organocatalisada entre aldeídos α,β -insaturados e aminas protegidas, seguida de uma reação para retirada do grupo protetor, levando à formação dos dímeros de amino aldeídos enantiomericamente enriquecidos, em apenas duas etapas reacionais (Esquema 3.8).



ESQUEMA 3.8: Rota sintética proposta para síntese ds dímeros de amino aldeídos.

3.2.1.1 - Síntese organocatalisada das 2-formil aziridinas

Diversas metodologias são descritas para a síntese assimétrica de aziridinas, tanto a partir de substratos quirais e/ou auxiliadores quirais,¹³⁹ como através de catálise assimétrica utilizando catalisadores organometálicos.¹⁴⁰ A metodologia descrita por Vesely e col. foi pioneira na síntese organocatalisada de 2-formil aziridinas através da reação entre aldeídos α,β -insaturados e aminas protegidas (Esquema 3.9).¹⁴¹

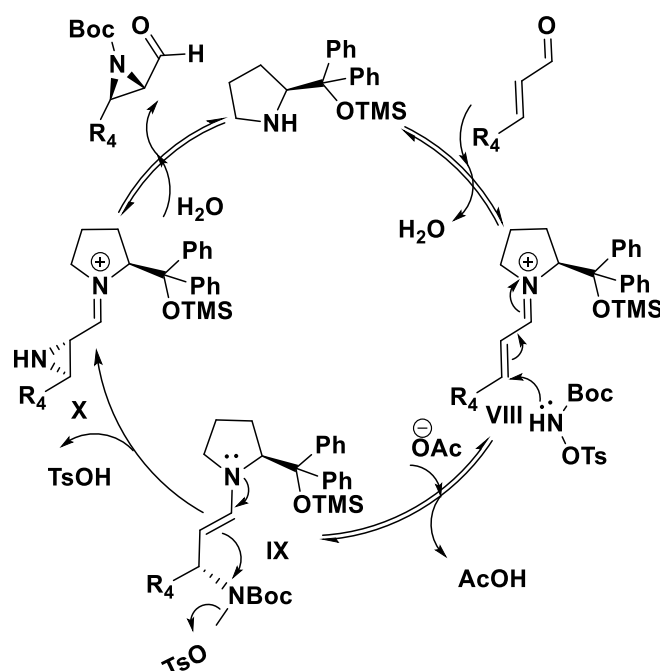


ESQUEMA 3.9: Reação de aziridinação através de aldeídos α,β -insaturados e aminas protegidas

Neste trabalho, os autores descreveram a utilização de hidroxiaminas *N*-protegidas como fonte de nitrogênio capazes de atuar como nucleófilos e subsequentemente como eletrófilos, levando à formação enantiosseletiva das aziridinas em uma única etapa reacional.

Com relação ao mecanismo proposto para a reação, a princípio ocorre uma adição nucleofílica do aminocatalisador ao aldeído α,β -insaturado, formando o íon imínium **VIII**. De forma análoga ao mecanismo discutido na reação organocatalisada de Michael para formação das piranocumarinas (Esquema 3.2), a formação preferencial do íon imínium de geometria *E,E* faz com que o ataque

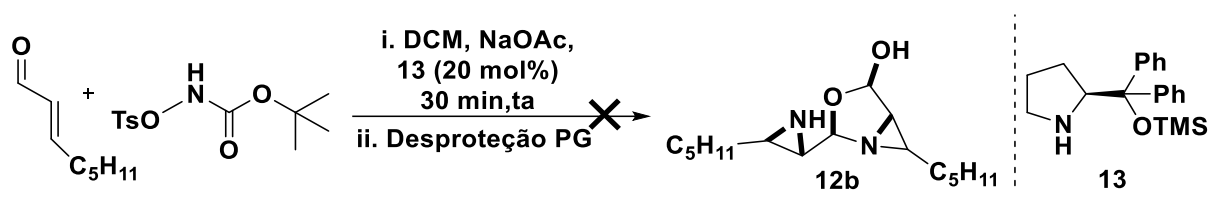
nucleofílico da amina protegida ao carbono β do íon imínium seja seletivamente pela face *Re*. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico da enamina **IX** ao nitrogênio da amina, agora um centro eletrofílico, levando à uma ciclização 3-*exo-tet*, com liberação de ácido *p*-toluenossulfônico. A formação do anel da aziridina, por uma ciclização intramolecular, desloca o equilíbrio global da reação para a formação do produto. Por fim, ocorre a hidrólise do íon imínium **X**, com a regeneração do organocatalisador e formação das 2-formil-aziridinas *N*-protegidas (Esquema 3.10).¹⁴¹



ESQUEMA 3.10: Mecanismo descrito para a síntese organocatalisada das 2-formil-aziridinas.

O *trans*-2-pentenal e a *N*-Boc-*O*-tosil-hidroxi-*am*ina foram os substratos escolhidos para a otimização da reação. Na tentativa de formação das 2-formil-aziridinas e subsequente desproteção do grupo Boc *one-pot* algumas condições reacionais convencionais foram testadas. Nestes testes, a síntese da aziridina foi realizada nas condições previamente descritas por Vesely *et al.*, utilizando diclorometano como solvente (0,2 M) e 20 mol% do organocatalisador de Jørgensen-Hayashi à temperatura ambiente (Tabela 3.10).

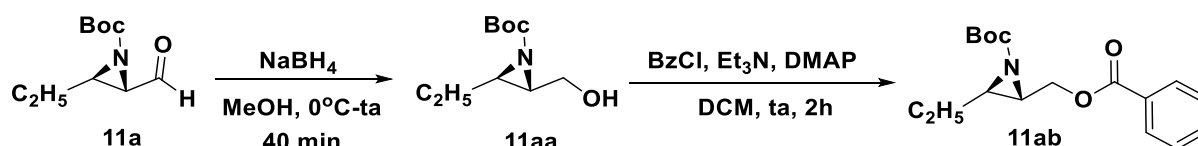
TABELA 3.10: Condições de desproteção do Boc testadas *one-pot*



Entrada	Desproteção
1	DCM, (C ₂ H ₅) ₃ SiH, DIPEA, TFA, 0°C, 40 min
2	4M HCl, Dioxano, NaHCO ₃ , ta, 2 h
3	Anisol, TFA, H ₂ SO ₄ , ta, 40 min

Devido à alta sensibilidade e reatividade das 2-formil aziridinas protegidas nas condições reacionais testadas, não foi possível a obtenção do dímero *one-pot*. Além disso, mesmo que a formação do dímero tivesse se processado de forma eficiente, o rendimento químico do produto poderia ser influenciado pela presença de excesso de aldeído α,β -insaturado, uma vez que este e o dímero podem reagir *via* reação de aza-Michael/Aldol, levando a formação de produtos colaterais.¹⁴²

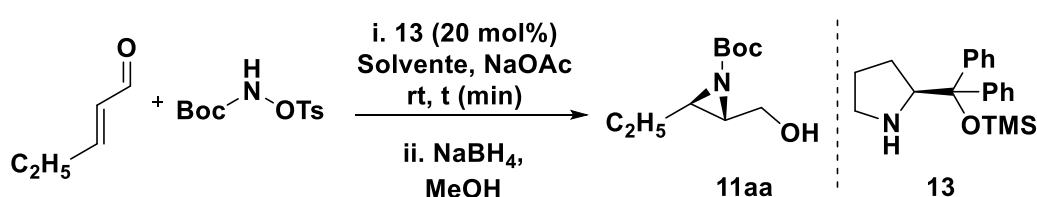
Visto as primeiras tentativas sem sucesso de obtenção dos dímeros *one-pot*, optou-se por avaliar solventes alternativos aos clorados descritos para a reação de aziridinação e isolar as 2-formil aziridinas protegidas.^{141,143} Para isso, a reação foi realizada com TsONHBoc (1,0 equiv., 0,2 M), NaOAc (3,0 equiv.) e 20 mol% do organocatalisador **13** em diferentes solventes, levando a formação de **11a** (Tabela 3.11). A princípio, MeCN foi utilizada na reação modelo com o *trans*-2-pentenal. O excesso enantiomérico foi determinado após derivatização para o éster correspondente (**11ab**), em duas etapas reacionais (Esquema 3.11). Através de comparação com os dados da literatura, o diastereoisômero majoritário foi definido como tendo estereoquímica 2*S*,3*R*.¹⁴¹



ESQUEMA 3.11: Derivatização da aziridina aldeído **11a** para determinação do excesso enantiomérico através de CLAE.

Devido a maior estabilidade do composto **11aa** em relação ao composto **11a**, foi determinado o rendimento químico do produto reduzido para otimização dos solventes. A reação com MeCN levou à formação do produto **11aa** em 70% de rendimento após as duas etapas reacionais (Tabela 3.11, Entrada 1). Por outro lado, o uso de um solvente polar prótico como EtOH proporcionou queda significativa do rendimento reacional (Tabela 3.11, Entrada 2). A reação em fase etérea, mesmo em longos períodos reacionais, não proporcionou bons rendimentos, embora tenha apresentado excelente enantiosseletividade e diastereosseletividade (Tabela 3.11, Entrada 3). Desta forma, um experimento a 40 °C foi realizado na tentativa de melhorar o rendimento reacional. Embora tenha sido possível verificar aumento no rendimento da reação, sem alteração do excesso enantiomérico, houve perda significativa da razão diastereoisomérica (rd) com o aumento da temperatura (Tabela 3.11, Entrada 4).

TABELA 3.11: Otimização dos solventes na reação de aziridinação



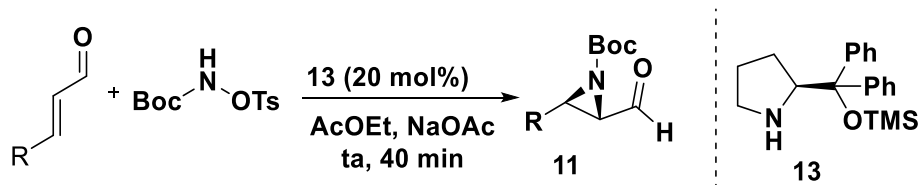
Entrada	Solvente	t (min)	Rend. (%) ^a	ee (%) ^b	rd ^c
1	MeCN	20	70	97	98:2
2	EtOH	20	52	96	90:10
3	MeTHF	120	36	99	96:4
4 ^d	Me-THF	20	56	98	88:12
5	Tolueno	20	52	99	88:12
6	AcOEt	40	85	98	91:9
7	TFE	120	-	-	-
8	GVL	20	nd	-	-

^a Rendimento isolado. ^b Determinado por coluna quiral via CLAE depois da redução seguida de esterificação de **11a**. Excesso enantiomérico referente ao diastereoisômero majoritário. ^c Determinado por RMN ¹H do bruto reacional. ^d Reação realizada a 40°C.

Outros solventes como tolueno, trifluoretanol (TFE) e γ -valerolactona (GVL) foram testados. No caso da reação em tolueno, baixo rendimento e baixa diastereosseletividade foram observados. A reação com TFE não resultou no produto desejado, sendo recuperados materiais de partida após 2 horas de reação. Apesar da conversão total obtida na reação em GVL, não foi possível a remoção do solvente da 2-formil aziridina mesmo após várias tentativas de purificação.

Desta forma, as reações em MeCN e AcOEt resultaram nos melhores rendimentos, excessos enantioméricos e rd. Com base no guia de sustentabilidade de solventes da GSK,¹⁴⁴ que caracteriza os solventes de acordo com critérios como segurança, origem, impacto ao meio ambiente e geração de resíduos, por exemplo, optou-se por dar continuidade à otimização da reação empregando AcOEt como solvente.

TABELA 3.12: Síntese assimétrica das 2-formil aziridinas

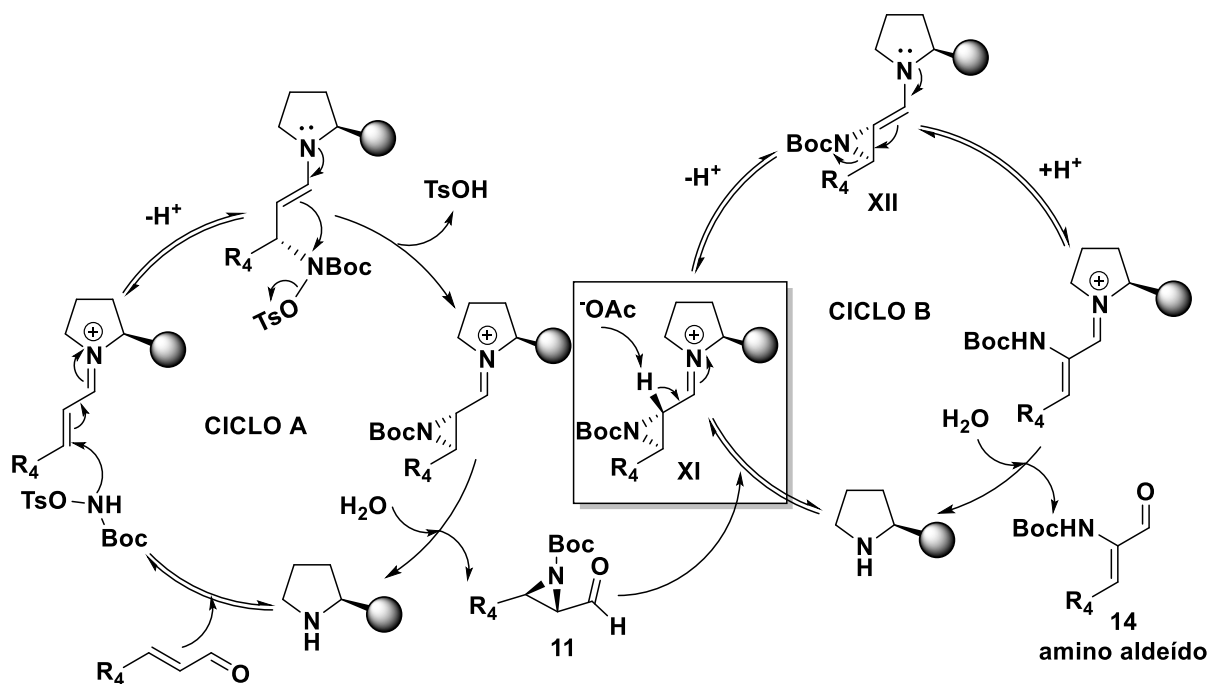


Entrada	Composto	Estrutura	Rend. (%)	ee (%)	rd ^c
1	11a		66	98 ^a	92:8
2	11b		67 ^b	99 ^a	92:8
3	11c		74	93 ^c	88:12
4	11d		55	99 ^c	92:8

^a Determinado por coluna quiral via CLAE após redução e benzoilação para o éster correspondente. ^b Rendimento referente ao álcool correspondente. ^c Determinado por coluna quiral via CLAE após redução para o álcool correspondente. Excesso enantiomérico do diastereoisômero majoritário ^c Determinado por RMN ¹H do bruto reacional.

Com a condição ótima determinada - AcOEt como solvente, NaOAc como base, temperatura ambiente por 40 minutos - outros aldeídos α,β -insaturados foram avaliados. Inicialmente, *trans*-2-octenal foi utilizado, levando a formação do produto **11b** com 67% de rendimento, excesso enantiomérico de 99% e rd de 92:8 (Tabela 3.12, Entrada 2). Outros dois aldeídos, derivados do *cis*-2-butenodiol e do 3-fenil-1-propanol, previamente sintetizados,¹⁴⁵ foram utilizados na reação de aziridinação organocatalisada. Ambas as reações proporcionaram bons rendimentos e ótimas seletividades (Tabela 3.12, Entradas 3 e 4).

Com o intuito de avaliar o desempenho de aldeídos aromáticos na reação de aziridinação, o *trans*-cinamaldeído foi submetido às condições ótimas da reação. Neste caso, entretanto, houve a obtenção praticamente exclusiva do α -amino aldeído correspondente (**14**). A formação deste produto se dá pela desprotonação do carbono β ao anel aromático no intermediário **IX**, levando à abertura do anel aziridina (Esquema 3.12).¹⁴⁶



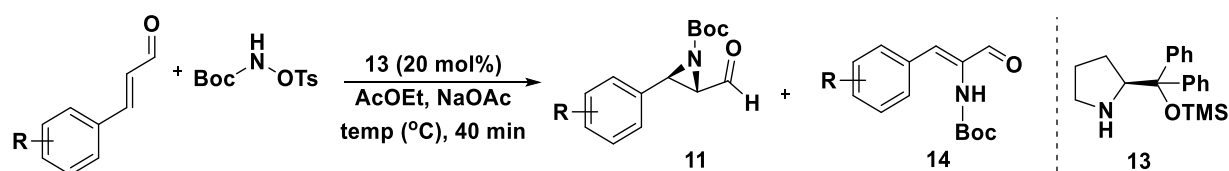
ESQUEMA 3.12: Mecanismo para a formação do subproduto observado pela abertura da 2-formil aziridina.

Sendo assim, modificações na condição ótima foram avaliadas na tentativa de obtenção da 2-formil aziridina derivada do *trans*-cinamaldeído. Primeiramente, uma reação à -20 °C, mantendo-se constante o excesso de base, foi

testada e, em seguida, a -20 °C com diminuição da quantidade de base (1,5 equiv.). Entretanto, em ambos os casos, apenas o produto derivado da abertura da aziridina pôde ser observado (Tabela 3.13, Entradas 1 e 2).

O efeito eletrônico dos substituintes do anel aromático foi então estudado nas duas condições reacionais alternativas (com redução da temperatura e com a redução da temperatura e da quantidade de base) e na condição ótima da reação. As reações com o *trans*-*p*-metoxicinamaldeído à temperatura ambiente, -20°C e com redução da quantidade de base à -20°C, resultaram apenas no produto α -amino aldeído indesejado, evidenciando que grupos doadores de elétrons no anel aromático favorecem a abertura do anel aziridina (Tabela 3.13, Entradas 3-5).

TABELA 3.13: Condições reacionais testadas para a síntese das 2-formil aziridinas derivadas de aldeídos α,β -insaturados aromáticos.



Entrada	R	Base (equiv.)	Temp. (°C)	Produto (Rend. %)	ee (%)	rd
1	H	3,0	-20	14a	nd	nd
2 ^a	H	1,5	-20	14a	nd	nd
3	<i>o</i> -MeO	3,0	25	14b	nd	nd
4	<i>o</i> -MeO	3,0	-20	14b	nd	nd
5 ^a	<i>o</i> -MeO	1,5	-20	14b	nd	nd
6	<i>p</i> -F	3,0	25	14c	nd	nd
7	<i>p</i> -F	3,0	-20	14c	nd	nd
8 ^a	<i>p</i> -F	1,5	-20	14c	nd	nd
9 ^b	<i>o</i> -NO ₂	1,5	-20	11e (57%)	99%	78:22
10 ^b	<i>o</i> -NO ₂	3,0	-20	11e (72%)	99%	82:18

^a Reação realizada em 2 horas. ^b Rendimento isolado entre parênteses; excesso enantiomérico determinado via CLAE do álcool correspondente.

A reação com o *trans-p*-fluorocinamaldeído também não resultou nos resultados esperados em nenhuma das três condições reacionais avaliadas, sendo observada a formação do subproduto indesejado majoritariamente e traços do produto de interesse – através de RMN ¹H do bruto reacional – que não se mostrou estável à purificação por coluna cromatográfica com sílica flash (Tabela 3.13, Entradas 6-8). Por fim, a reação com *trans-o*-nitrocinamaldeído se mostrou bastante promissora a -20°C com 1,5 equiv. de base resultando em 57% de rendimento, excesso enantiomérico de 99% para o diastereoisomero majoritário, e razão diastereoisomérica de 78:22 (Tabela 3.13, Entrada 9). A título de comparação, repetiu-se a reação utilizando 3,0 equiv. de base a -20°C, sendo obtidos melhores rendimentos e seletividades (Tabela 3.13, Entrada 10). Neste caso, a moderada diastereosseletividade da reação é proveniente do aldeído de partida, que foi sintetizado com uma rd de 88:12.

Os resultados obtidos na reação com *o*-nitrocinamaldeído sugerem a necessidade de um grupo fortemente retirador de elétrons para que a reação se processe satisfatoriamente com aldeídos α,β -insaturados aromáticos, sem que haja abertura da 2-formil aziridina em quantidades significativas. A influência eletrônica dos substituintes na reação de aziridinação pode ser explicada pelo fato de que a abertura da aziridina ativada (intermediário **XII**, Esquema 3.11) se processar através de um mecanismo de fronteira S_{N1}/ S_{N2}. Desta forma, a presença de grupos doadores de elétrons estabiliza o carbocátion formado, favorecendo a abertura do anel. Em contrapartida, grupos elétron-retiradores desentailizam o possível carbocátion formado, desfavorecendo a abertura do anel.

Uma vez que os compostos sintetizados já são descritos na literatura,^{143,146} a caracterização das 2-formil aziridinas e de seus álcoois e ésteres correspondentes foi feita através de RMN ¹H e ¹³C. Os excessos enantioméricos dos compostos derivatizados foram obtidos através de cromatografia líquida com colunas quirais em equipamentos de CLAE e UPC² (do inglês, *UltraPerformance Convergence Chromatography*). Através dos espectros de RMN ¹H e ¹³C do composto **11a**, por exemplo, foi possível a verificação da formação do produto pela presença dos sinais característicos para essa classe de compostos. No caso do espectro de RMN ¹H, o anel aziridina é representado por sinais em δ 2,92 ppm (dd) e δ 2,79 ppm (dt), e pelo hidrogênio do aldeído, encontrado como um dubleto em δ 9,09 ppm. Os carbonos correspondentes foram verificados no espectro de RMN ¹³C em deslocamentos químicos iguais a δ 46,89, 44,94 e 195,86 ppm, respectivamente.

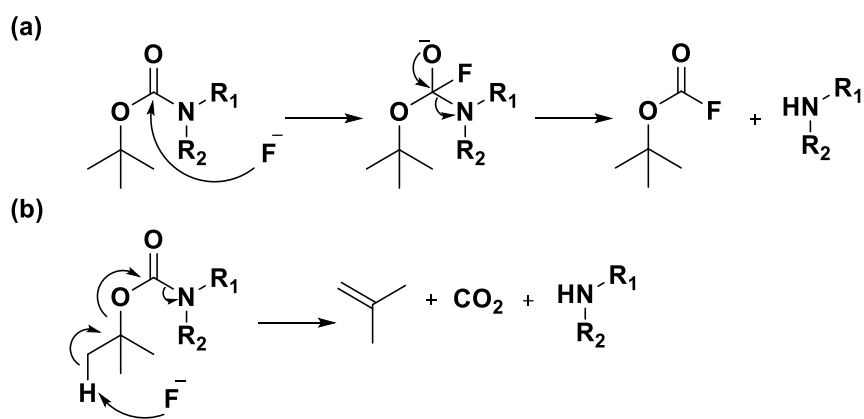
3.2.1.2 – Desproteção da 2-formil aziridinas com TBAF

Uma vez que a tentativa de desproteção do grupo Boc não foi eficiente nas condições clássicas testadas, metodologias mais brandas foram utilizadas para evitar decomposição do produto e/ou do dímero. Fusco *et al.* descreveram a síntese assimétrica de aziridinas terminais, utilizando desproteção do Boc da aziridina com TBAF (fluoreto de tetrabutílamônio) em refluxo com THF.¹⁴⁷

Esse tipo de desproteção com sal de amônio quaternário é empregado para uma gama de *N*-heterociclos além das aziridinas, tais como indóis, anilinas, aminas primárias e secundárias, entre outros,¹⁴⁸ e pode ser vista como uma alternativa viável para a desproteção de substratos sensíveis a condições drásticas como o uso de TFA ou HCl.

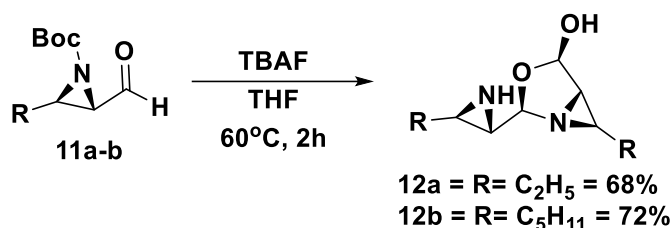
Duas propostas mecanísticas são reportadas para explicar o curso da reação: uma delas considera o caráter nucleofílico do fluoreto, enquanto a outra leva em consideração seu caráter básico.¹⁴⁸ A primeira proposta, sugere que ocorra um ataque nucleofílico do íon F⁻ à carboxila do grupo Boc, levando a formação do produto de interesse e Boc-F. Após hidrólise do Boc-F, há formação de *tert*-butanol, CO₂ e HF (Esquema 3.13, a). Já a segunda proposta leva em consideração a capacidade básica do íon fluoreto em remover um hidrogênio do Csp³ do Boc via β-eliminação, levando a formação do composto nitrogenado desprotegido, isobuteno, CO₂ e HF (Esquema 3.13, b).

Sabe-se que o íon fluoreto apresenta maior caráter nucleofílico em solventes polares apróticos, sendo que a nucleofilicidade da espécie é diminuída em solventes polares próticos devido à solvatação do ânion.¹⁴⁹ Sendo assim, levando em consideração a baixa acidez dos hidrogênios da metila do grupo Boc e o caráter aprótico do THF, sugere-se que o mecanismo proposto no Esquema 3.13 (a) seja o mais viável para desproteção do Boc com TBAF, nessas condições.



ESQUEMA 3.13: Possíveis mecanismos reacionais para a clivagem do Boc pelo TBAF monohidratado.

Com base no exposto acima, a reação de desproteção descrita com TBAF em refluxo de THF por duas horas foi testada para obtenção dos derivados do *trans*-2-pental (12a) e do *trans*-2-octenal (12b), obtendo-se rendimentos de 68 e 72%, respectivamente (Esquema 3.14).



ESQUEMA 3.14: Síntese dos dímeros de aziridina-aldeído

Com o propósito de avaliar a eficiência de um análogo mais sustentável ao THF como solvente da reação, repetiu-se a reação do composto 11b com 2-metiltetraidrofurano (Me-THF), nas mesmas condições reacionais apresentadas no Esquema 3.13 e obteve-se um resultado promissor em uma hora de reação, com 100% de conversão analisado por RMN ¹H do bruto reacional e 42% de rendimento isolado. Observou-se, entretanto, que os rendimentos isolados tanto nas reações realizadas com THF como naquelas com Me-THF não foram reproduzíveis, devido principalmente à alta polaridade dos compostos e a dificuldade do acompanhamento da reação por cromatografia em camada delgada. Esse problema se agravou para os derivados das outras formil-aziridinas sintetizadas, devido ao aumento da polaridade dos compostos. Sendo assim, optou-se por verificar a formação dos dímeros de amino

aldeídos por RMN ^1H e utilizá-los na reação de formação das hidantoínas reduzidas sem purificação por coluna cromatográfica.

O acompanhamento da reação por RMN ^1H , para obtenção da conversão da reação, foi realizada pela observação dos hidrogênios característicos dos compostos. Para isso, foi analisado o desaparecimento do sinal do hidrogênio do aldeído do material de partida, de deslocamento químico em torno de 9,10 ppm e o aparecimento dos sinais de hidrogênio do hemiacetal e do hidrogênio do hemiaminal - deslocamentos químicos em 5,20 e 4,90 ppm, respectivamente (Figura 3.4).

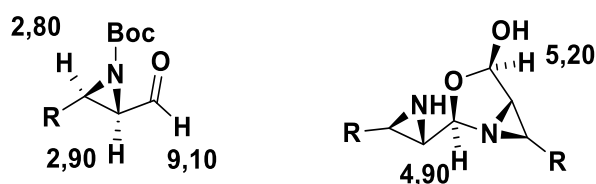


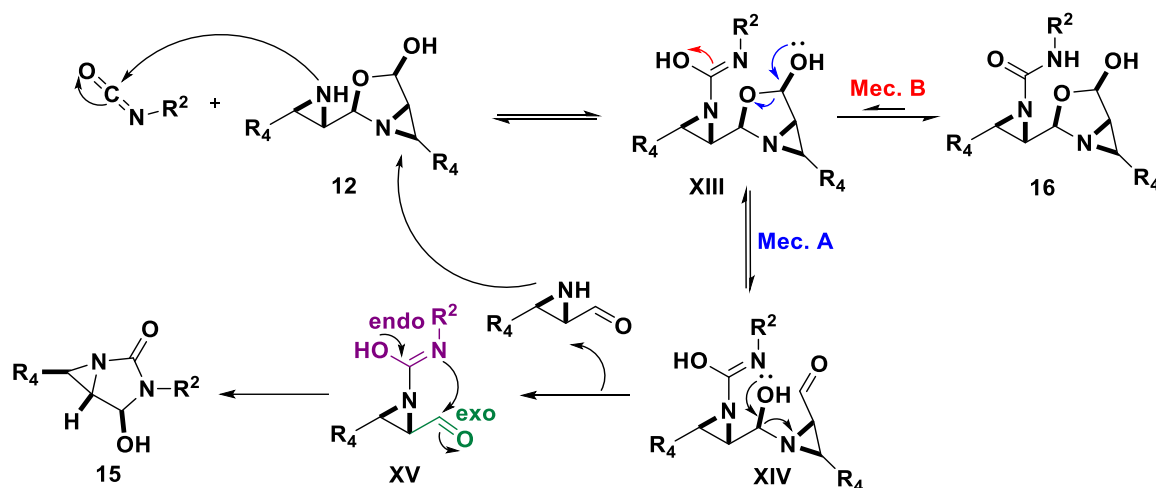
FIGURA 3.4: Deslocamentos químicos, em ppm, dos hidrogênios característicos das 2-formil aziridinas N-Boc protegidas e dos dímeros de amino aldeídos.

3.2.1.3 – Obtenção das hidantoínas reduzidas

A síntese das hidantoínas reduzidas foi realizada com base na metodologia descrita pelo grupo do Professor Yudin, em que dímeros de amino aldeído com substituintes alifáticos e isocianatos reagem em uma mistura de HFIP (hexafluorisopropanol) e água para a formação do produto bicíclico.⁷⁷ Com base no caráter anfotérico de ambos materiais de partida, os autores exploraram a capacidade das 2-formil aziridinas em sua forma monomérica formada *in situ*, em atuar em anelações do tipo (3+2). A dissociação do dímero é altamente dependente do solvente da reação: estudos prévios do mesmo grupo de pesquisa apontam que diferentemente de outros solventes como DCM, metanol, THF, MeCN e tolueno, os solventes fluorados como HFIP são capazes de quebrar rapidamente a ligação de hidrogênio, que estabiliza o dímero, favorecendo a abertura do hemiacetal e conseqüentemente aumentando a reatividade da aziridina aldeído.¹⁴²

Em relação ao mecanismo da reação, a anelação (3+2) planejada deve ocorrer por etapas: a princípio, a reação se processa através do ataque nucleofílico do nitrogênio livre da aziridina ao carbono α do isocianato. Em seguida, ocorre a abertura do hemiacetal levando à formação do intermediário acíclico **XIV** e à perda de

uma unidade monomérica de aziridina aldeído. Por fim, uma ciclização 5(enol, *endo*)-*exo*-trig do intermediário **XV**, promove a formação das hidantoínas reduzidas (Esquema 3.15). Cabe ressaltar que a depender da proporção HFIP:H₂O adicionada no meio reacional, há formação do subproduto **16** com conseqüente abertura do anel aziridina.⁷⁷

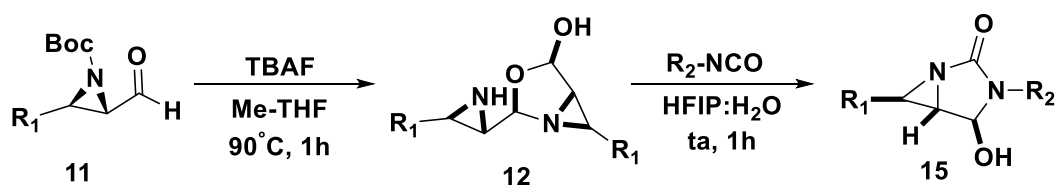


ESQUEMA 3.15: Mecanismo proposto para síntese das hidantoínas reduzidas.

Com base no exposto acima, e devido à dificuldade de purificação de forma eficiente dos dímeros de aminoaldeídos, a síntese das hidantoínas reduzidas foi realizada através das duas etapas sequencias previamente discutidas (Tabela 3.14).

As reações com fenil isocianato e os dímeros de aziridina aldeídos com substituintes alifáticos, proporcionaram as correspondentes hidantoínas reduzidas em bons rendimentos (Tabela 3.14, Entradas 1-4). De forma análoga ao trabalho de Yudin *et al.*⁷⁶ não foi possível detectar a formação do produto da reação entre o fenil isocianato e o dímero com substituinte aromático (derivado do *trans*-*o*-nitrocinamaldeído). Outros isocianatos alifáticos foram empregados na metodologia com dímeros também alifáticos, resultando em hidantoínas reduzidas com bons rendimentos (Tabela 3.14, Entradas 5-6). Além disso, a reação com o *p*-metoxifenilisocianato resultou no produto de interesse em 49% de rendimento e 99% de ee, após duas etapas reacionais (Tabela 3.14, Entrada 7).

TABELA 3.14: Síntese sequencial para obtenção das hidantoínas reduzidas



Entrada	Composto	Estrutura	Rend. (%) ^a	ee (%) ^b
1	15a		59	99
2	15b		43	nd
3	15c		40	nd
4	15d		44	99
5	15e		51	98
6	15f		43	90
7	15g		49	99

^a Rendimento isolado após as duas etapas. ^b Determinado por UPC². nd: não determinado.

A configuração relativa dos compostos foi determinada por comparação com os dados descritos no trabalho de Cheung *et al.*⁷⁷ As hidantoínas **15a-g** foram caracterizadas por RMN ¹H e ¹³C, ponto de fusão e HRMS. A conversão do dímero de aminoaldeído na hidantoína reduzida **15a** pode ser observada por RMN ¹H pela ausência do sinal do hidrogênio do hemiacetal em deslocamento químico de δ 5,20 ppm. Dentre os sinais característicos do produto bicíclico destacam-se os dos hidrogênios do anel aziridina (δ 2,23 e 2,80 ppm) e o do hidrogênio do hemiaminal (δ 5,66 ppm). Os correspondentes carbonos apresentam deslocamentos químicos de 46,18, 49,88 e 83,12 ppm, respectivamente.

3.2.2 - Síntese de hidantoínas a partir de aminoácidos naturais

As hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas foram sintetizadas a fim de obter os compostos híbridos de hidantoínas e cumarinas para posterior avaliação e comparação da atividade enzimática dos produtos obtidos com o inibidor modelo (**LSPN223**).²¹

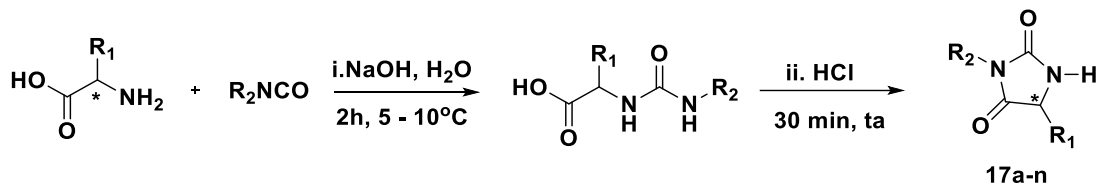
A princípio, as hidantoínas 5-substituídas foram sintetizadas pela metodologia descrita por Jerusi,¹⁵⁰ a partir de aminoácidos naturais e isocianatos em meio aquoso (Tabela 3.15).

A formação do intermediário uréia se dá em meio básico, pela adição nucleofílica do nitrogênio do aminoácido ao carbono do isocianato. O tratamento ácido posterior, possibilita a ciclização pelo ataque intramolecular do nitrogênio ao carbono carboxílico do aminoácido, levando a formação do anel de 5 membros.

As hidantoínas **17a-n** foram caracterizadas por RMN ¹H e ¹³C, IV, e CG-EM. Além disso, a atividade óptica dos produtos derivados da *L*-fenilalanina, *L*-leucina e *L*-valina foram determinados. Através dos espectros de RMN ¹H dos compostos **17a-j** foi possível notar sinais de diferentes multiplicidades, a depender do isocianato utilizado, com deslocamento químico entre δ 4,03 – 4,55 ppm referente ao hidrogênio (ou aos 2 hidrogênios no caso dos derivados da glicina) do anel da hidantoína. Como o solvente utilizado para as análises foi DMSO-d₆, foi possível notar um sinal de baixa intensidade bastante desblindado (na faixa de δ 8,12-8,65 ppm), referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio. O aparecimento de apenas um sinal na faixa de δ 8 ppm é também um indício que houve a ciclização da uréia. Todos os espectros de

RMN ^{13}C mostraram os sinais característicos das duas carboxilas do anel de cinco membros (δ 155,60 e 172,53 para o composto **17a**, por exemplo).

TABELA 3.15: Hidantoínas sintetizadas através de aminoácidos naturais



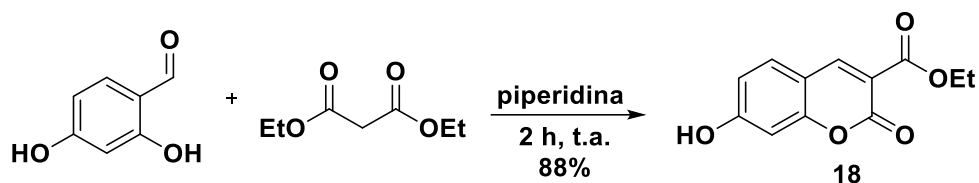
Composto	Aminoácido	R ₂ -NCO	Rendimento (%)
17a	<i>L</i> -Valina	<i>p</i> -Br-fenil	50
17b	<i>L</i> -Leucina	Fenil	63
17c	Glicina	Fenil	60
17d	<i>L</i> -Fenilalanina	Fenil	76
17e	Glicina	<i>p</i> -Br-fenil	55
17f	<i>L</i> -Leucina	<i>p</i> -Br-fenil	52
17g	<i>L</i> -Fenilalanina	<i>p</i> -Br-fenil	54
17h	<i>L</i> -Fenilalanina	<i>p</i> -MeO-fenil	65
17i	<i>L</i> -Leucina	<i>p</i> -MeO-fenil	73
17j	Glicina	<i>p</i> -MeO-fenil	67
17k	<i>L</i> -Fenilalanina	2-Cl-etil	73
17l	<i>L</i> -Leucina	2-Cl-etil	80
17m	<i>L</i> -Valina	2-Cl-etil	89
17n	Glicina	2-Cl-etil	86

Os espectros de infravermelho (KBr) mostraram bandas de deformação das principais funções presentes nas hidantoínas. As bandas de deformação axial das duas ligações C=O aparecem finas e intensas, numa faixa de 1774-1784 e 1710-1731 cm^{-1} . No caso dos análogos halogenados, a banda referente ao estiramento C-Cl aparece em número de onda em torno de 750 cm^{-1} , devido ao aumento da massa do átomo ligado ao carbono e conseqüente diminuição da frequência de ligação.

Os espectros de massas de todas as hidantoínas derivadas de aminoácidos naturais corroboraram com as outras técnicas espectroscópicas utilizadas para caracterização dos compostos obtidos.

3.2.2.1 - Estudos visando de obtenção dos híbridos de hidantoína e cumarina

A fim de se obter os derivados de hidantoína acoplados ao anel cumarínico, o composto 2-oxo-2H-3-cromenocarboxilato de etila (**18**) foi sintetizado através da reação de Knoevenagel (Esquema 3.16).¹⁵¹

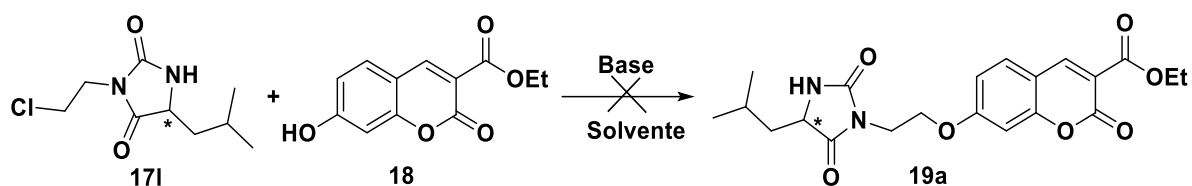


ESQUEMA 3.16: Metodologia para obtenção da cumarina **18**

O composto **18** foi caracterizado por RMN e IV, e os dados obtidos corroboraram com os descritos na literatura.¹⁵²

Tendo sintetizado as hidantoínas com o substituinte 2-cloroetil na posição 3 do anel (**17k-n**) e a cumarina **18**, algumas metodologias foram testadas para obtenção dos compostos híbridos. Entretanto, vários experimentos utilizando bases inorgânicas e solventes comumente empregados em reações de *O*-alquilação^{153,154} não tiveram sucesso. Não foi observada a formação do produto de interesse em nenhum dos testes realizados, e mesmo após longos períodos de tempo, era verificada ainda a presença da cumarina **18** na mistura reacional. Uma possível explicação para a não ocorrência da reação é a presença do hidrogênio ácido no C5 da hidantoína, que pode ser consumida por reações colaterais, diminuindo a concentração do eletrófilo no meio reacional. Além disso, o N1 poderia fazer uma substituição nucleofílica intramolecular, levando a um composto bicíclico, com saída de Cl⁻ e H₂O, uma vez que a base é utilizada em excesso. A Tabela 3.16 apresenta as principais condições reacionais testadas para obtenção dos compostos híbridos.

TABELA 3.16: Condições reacionais testadas para a reação de O-alkilação da cumarina **18**.



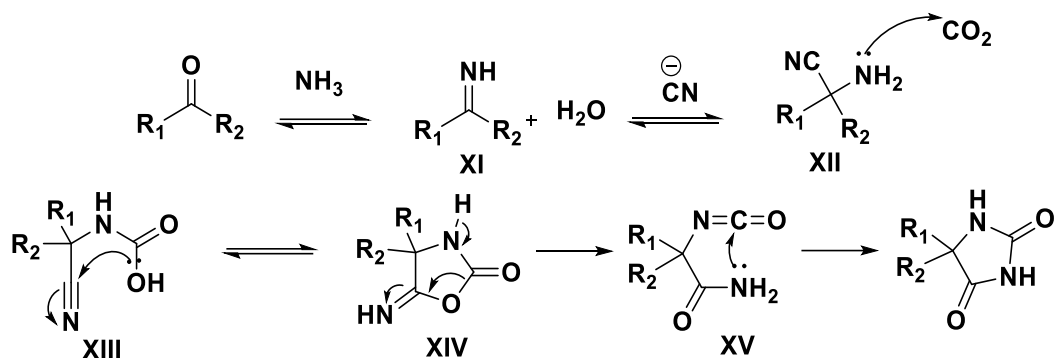
Entrada ^a	Base	Solvente	cat.	T (°C)	Tempo (h)
1	NaH	DMF	KI	80	30
2	Cs ₂ CO ₃	Acetona	KI	80	30
3	K ₂ CO ₃	DMF	KI	80	30
4	K ₂ CO ₃	DMF	KI	80	30
5	Cs ₂ CO ₃	Acetona	KI	80	30
6	KOH	Tolueno/DMF	-	70	12

^a As reações foram realizadas com o composto **17I** (1,2 equiv.), composto **18** (1,0 equiv., 0,06 M), base (2,2 equiv.), KI (5 mol%).

3.2.3 - Síntese das hidantoínas através da reação de Bucherer-Bergs

Considerando as tentativas sem sucesso de obtenção dos compostos híbridos a partir das hidantoínas **17k-n**, optou-se por sintetizar hidantoínas 5,5-dissubstituídas e avaliar a influência do hidrogênio no carbono 5 do anel hidantoína na reação de substituição nucleofílica. A síntese das hidantoínas tetrassubstituídas foi realizada a partir da reação de Bucherer-Bergs entre cetonas, cianeto de potássio e carbonato de amônio.¹⁵⁵

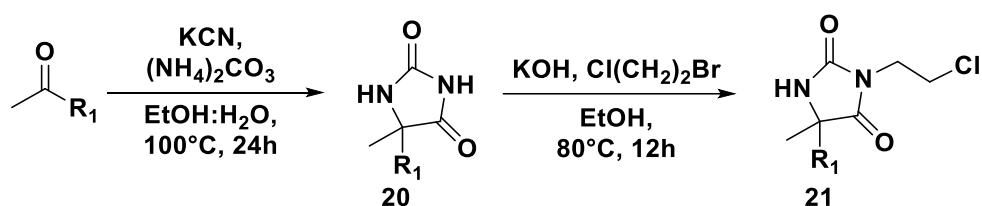
O mecanismo proposto para essa reação multicomponente inicia-se a partir da reação entre o composto carbonílico com a amônia seguida da adição nucleofílica do ânion cianeto à imina **XI**, levando à formação da α -aminonitrila. A consequente adição da aminonitrila ao dióxido de carbono gera o derivado de ácido cianocarbâmico **XIII**, que através de uma adição nucleofílica do ácido à nitrila, leva a formação do intermediário 5-imino-oxazolidin-2-ona **XIV**. A hidantoína 5,5-dissubstituída é formada após subsequente rearranjo e ciclização intramolecular do intermediário **XV** (Esquema 3.17).^{156,157}



ESQUEMA 3.17: Mecanismo proposto para a reação de Bucherer-Bergs.

A partir da metodologia descrita por Jain *et al.*¹⁵⁸ quatro hidantoínas 5,5-dissubstituídas foram sintetizadas e posteriormente submetidas à reação de alquilação com 1-bromo-2-cloroetano em meio básico¹⁵⁹ (Tabela 3.17).

TABELA 3.17: Síntese das hidantoínas a partir da reação de Bucherer-Bergs via aquecimento convencional, seguida da reação de *N*-alquilação.



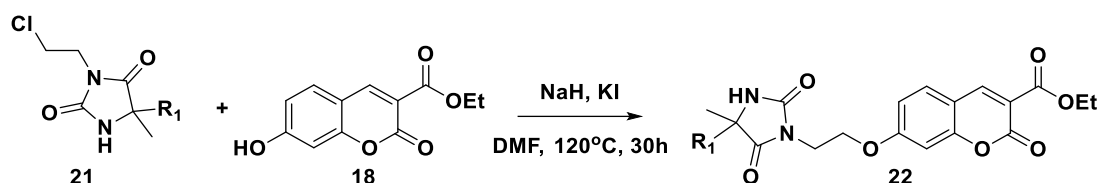
Entrada	Cetona	Prod. (Rend. %)	Prod. (Rend. %)
1	Acetofenona	20a (92)	21a (80)
2	Butanona	20b (74)	21b (75)
3	Pentanona	20c (65)	21c (84)
4	Acetona	20d (88)	21d (92)

3.2.4 – Síntese dos compostos híbridos

A síntese dos compostos híbridos derivados das hidantoínas tetra-substituídas foi baseada na metodologia descrita por Castor *et al.*, em que fenóis e 2-cloroetilpiperidina reagem na presença de hidreto de sódio, iodeto de potássio e DMF. A reação de alquilação é iniciada pela formação do alcóxido da cumarina **18** em meio básico e pela concomitante geração *in situ* do intermediário iodado derivado da

hidantoína. A formação dos compostos de interesse ocorre após a adição do nucleófilo à espécie iodada. Entretanto, a reação se processou de forma lenta e com baixo rendimento com as duas hidantoinas testadas (Tabela 3.18). Após 30h ainda era possível observar a presença da cumarina de partida. Visando aumentar o rendimento, foram testadas outras hidantoinas, bases (K_2CO_3 e Cs_2CO_3) e DMI como solvente além de aquecimento por micro-ondas, porém sem sucesso.

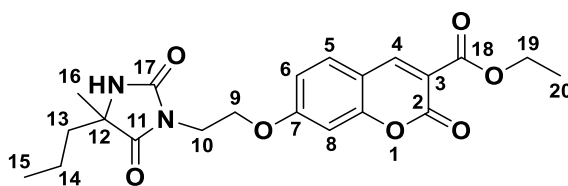
TABELA 3.18: Rendimentos obtidos na reação de O-alkilação



Composto	R ₁	Rendimento (%)
22a	<i>nPr</i>	24
22b	Me	11

Embora os resultados não tenham sido satisfatórios, decidiu-se por testar a atividade inibitória dos dois compostos frente à AChE, para então avaliar melhores condições regionais, caso necessário.

Os compostos híbridos foram caracterizados por RMN 1H e ^{13}C . Através da análise dos espectros de ressonância magnética nuclear do composto **22a**, por exemplo, foi possível confirmar a formação da ligação C-O proveniente da O-alkilação, pela presença do duplo dubleto em δ 3,91 ppm referente aos quatro hidrogênios do espaçador de dois carbonos entre a hidantoína e a cumarina (C9 e C10). Os demais sinais estão correlacionados com os respectivos hidrogênios e carbonos na Tabela 3.19.

TABELA 3.19: Dados espectroscópicos do composto **22a**

Posição	^1H : δ (ppm), J (Hz)	^{13}C
2	-	164,66
3	-	113,42
4	8,66 (s)	132,68
5	7,69 (d, $J = 8,51$)	150,69
6, 8	6,94 (m)	114,99; 102,05
7	-	164,66
9, 10	3,91 (dd, $J = 5,27, 9,54$)	66,47; 40,93
11	-	159,07
12	-	62,62
13	1,71 (ddd, $J = 4,88; 11,88; 13,81$) 1,58 (ddd, $J = 4,58; 12,10; 13,84$)	38,58
14	1,28 (m); 1,08 (m)	17,97
15	0,83 (t, $J = 7,34$)	14,20
16	1,34 (s)	24,17
17	-	179,30
18	-	165,63
19	4,35 (q, $J = 7,21$)	63,13
20	1,38 ($J = 7,13$)	14,50

3.2.5 - Síntese em fluxo contínuo das hidantoínas através da reação de Bucherer-Bergs

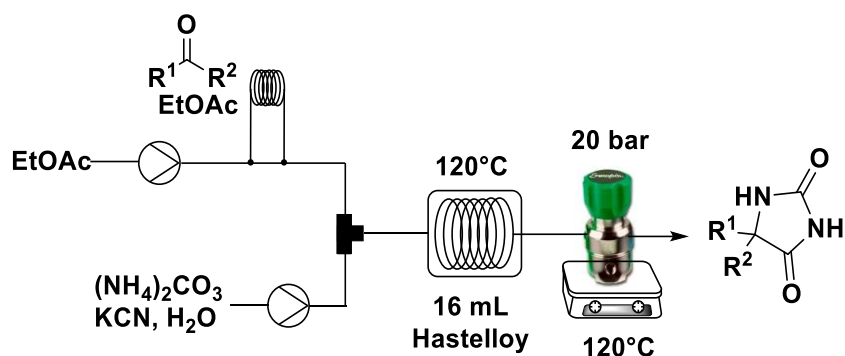
Apesar da reação de Bucherer-Bergs ser comumente utilizada para a síntese de hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas, o emprego dessa metodologia em batelada apresenta algumas limitações práticas como, por exemplo, a dispersão dos reagentes gasosos (CO_2 e NH_3) formados durante o aquecimento da mistura reacional. Experimentalmente, é possível observar nas reações realizadas em refluxo

o acúmulo de carbonato de amônio na junta do balão reacional, devido a sublimação do sal. Além disso, através da metodologia em batelada, longos períodos reacionais (horas ou dias) são necessários para obtenção dos heterociclos.¹⁶⁰ Outro inconveniente do uso da metodologia convencional é o manuseio de cianeto de potássio, principalmente em grandes quantidades.

Com base no exposto acima, foi proposto o estudo da reação de Bucherer-Bergs em reatores de fluxo contínuo com o intuito de superar algumas limitações encontradas nas reações em batelada. Para essa reação específica, o processo contínuo permite que os reagentes gasosos sejam mantidos em solução através de reguladores de pressão, evitando o desprendimento dos gases e aumentando a eficiência da reação para diversos substratos. Além disso, a metodologia em fluxo contínuo pode ser considerada uma alternativa segura para a reação, mesmo em temperaturas acima do ponto de ebulição do solvente, uma vez que o ânion cianeto é formado *in situ* e o *quench* da reação pode ser feito *in-line*.

Uma vez que a reação de Bucherer-Bergs se enquadra na gama de reações com solventes mistos (normalmente etanol e água), o uso dos reatores em fluxo contínuo possibilita a formação de duas fases líquidas bem definidas nas linhas do reator, levando ao aumento da superfície de contato entre os reagentes. Geralmente, o uso de solventes bifásicos em reações em fluxo contínuo proporciona a diminuição dos tempos reacionais e, em alguns casos, a melhoria no rendimento químico das reações.⁹⁵

O estudo sistemático da reação foi iniciado em um sistema com duas bombas seringas: uma delas foi utilizada para fornecer continuamente os compostos carbonílicos em solvente orgânico (linha A), e a outra utilizada para a solução aquosa de carbonato de amônio e cianeto de potássio (linha B). Após passar pelo misturador em T, a mistura reacional foi então bombeada para um reator de 16 mL aquecido a 120 °C. Para evitar a dispersão dos gases formados, bem como garantir a correta estequiometria da reação, um regulador de pressão foi mantido na saída do reator a 20 bar durante todo o processo (Esquema 3.18).

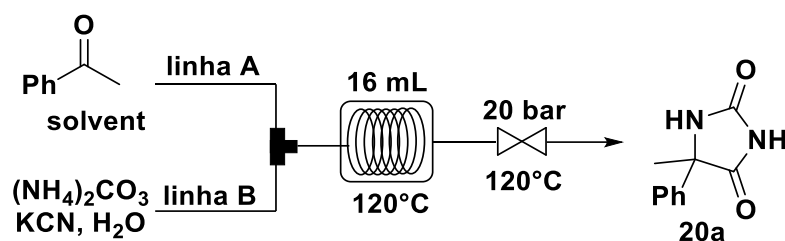


ESQUEMA 3.18: Configuração do sistema em fluxo contínuo montado para a síntese das hidantoínas

A princípio, a reação modelo com acetofenona, $\text{KCN}_{(\text{aq})}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_{3(\text{aq})}$ foi testada sem solvente orgânico, a uma vazão total de 1,0 mL/min, durante 16 minutos. Devido a insolubilidade da hidantoína em água, observou-se a precipitação do produto no reator, ocasionando o entupimento do sistema (Tabela 3.20, Entrada 1). Em seguida, EtOH, MeOH e *i*-PrOH foram testados com resultados bastante promissores. Entretanto, devido a miscibilidade dos álcoois em água, os segmentos bifásicos entre a fase aquosa e a fase orgânica perderam simetria e parte do material de partida, mais apolar, ficou retido na parede das linhas. Desta forma, a estequiometria da reação, bem como o tempo de residência não puderam ser reproduzidos (Tabela 3.20, Entradas 2-4). A alternativa encontrada foi utilizar acetato de etila como solvente, que permitiu a formação dos seguimentos bifásicos bem definidos e o bombeamento correto do substrato para o reator, proporcionando 72% de conversão do material de partida para o produto de interesse (Tabela 3.20, Entrada 5).

Em seguida, foi observado pequeno acréscimo na conversão da reação com o aumento do tempo de residência para 32 minutos (Tabela 3.20, Entrada 6). Com relação à temperatura, tanto o experimento em 100 °C como aquele à 140 °C, proporcionaram menor formação do produto (Tabela 3.20, Entradas 7 e 8). O último parâmetro avaliado foi a estequiometria da reação, cuja relação ótima foi definida como sendo 3,5 equiv. de carbonato de amônio e 1,5 equiv. de cianeto de potássio (Tabela 3.20, Entrada 10).

TABELA 3.20: Otimização da síntese das hidantoínas em fluxo contínuo



Entrada	Solvente (mol L ⁻¹)	Linha A/B (μL min ⁻¹)	t _R [min]	KCN/(NH ₄) ₂ CO ₃ (equiv.)	Conv. (%) ^a
1	-	166 / 834	16	1.2 / 3.0	entupimento
2 ^b	EtOH (4)	166 / 834	16	1.2 / 3.0	90
3 ^b	MeOH (4)	166 / 834	16	1.2 / 3.0	93
4 ^b	i-PrOH (4)	166 / 834	16	1.2 / 3.0	92
5	EtOAc (4)	166 / 834	16	1.2 / 3.0	72
6	EtOAc (4)	83 / 417	32	1.2 / 3.0	80
7 ^c	EtOAc (4)	83 / 417	32	1.2 / 3.0	55
8 ^d	EtOAc (4)	83 / 417	32	1.2 / 3.0	60
8	EtOAc (5)	83 / 417	32	1.2 / 3.0	88
9	EtOAc (5)	70 / 430	32	1.2 / 3.0	87
10	EtOAc (5)	70 / 430	32	1.5 / 3.5	96 (91) ^e
11	EtOAc (5)	70 / 490	29	1.5 / 4.0	95

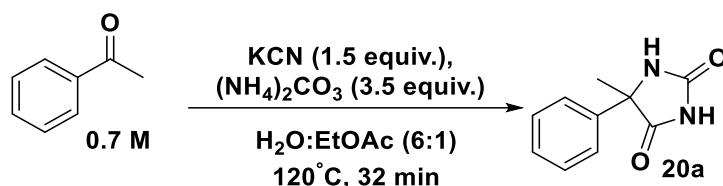
^a Determinado por CLAE à 215 nm. ^b Não foi possível manter o controle da estequiometria da reação. ^c Reação realizada à 100°C. ^d Reação realizada à 140°C. ^e Rendimento isolado após extração líquido/líquido entre parênteses.

Com as condições ótimas estabelecidas, três testes em micro-ondas foram realizados a fim de se avaliar a eficiência da reação no reator contínuo. Para isso, utilizou-se tubos de micro-ondas de 10 mL e a condição ótima obtida em fluxo contínuo. No primeiro experimento, a reação foi realizada com 3,5 mL de mistura reacional, sendo obtida uma conversão de 39 % (Tabela 3.21, Entrada 1; Figura 3.5, A). A baixa conversão pode ser explicada pelo excesso de carbonato de amônio encontrado no topo do tubo de micro-ondas que não reagiu devido à sublimação durante o aquecimento. Uma vez que o experimento foi realizado em um tubo de 10 mL, a maior parte do tubo estava vazio, permitindo a dispersão dos gases formados durante o aquecimento.

O segundo experimento foi realizado com o dobro da mistura reacional (7,0 mL). Neste caso, a baixa porcentagem de conversão (15%) é explicada pela baixa

superfície de contato entre as duas fases líquidas, uma vez que a fase orgânica fica no topo da mistura reacional e a agitação é prejudicada pelo grande volume da mistura reacional (Tabela 3.21, Entrada 2; Figura 3.5, B). Na tentativa de solucionar o problema da agitação, e desta forma aumentar a superfície de contato entre os reagentes, uma barra magnética adaptada, desenvolvida pelo grupo do Professor Kappe,¹⁶¹ foi utilizada resultando em 77% de conversão (Tabela 3.21, Entrada 3; Figura 3.5, C). Entretanto, nenhum dos três experimentos no micro-ondas apresentou conversão superior ao obtido em fluxo contínuo em condições reacionais comparáveis (Tabela 3.21, Entrada 4).

TABELA 3.21: Comparação da síntese de hidantoínas em micro-ondas e em fluxo contínuo.



Entrada	Condição	Conversão (%) ^a
A	Micro-ondas, 3,5 mL	39
B	Micro-ondas, 7,0 mL	15
C ^b	Micro-ondas, 7,0 mL	77
D	Fluxo contínuo	96

^aDeterminado por HPLC-UV/VIS à 215 nm. ^b Reação realizada com uma barra magnética adaptada.

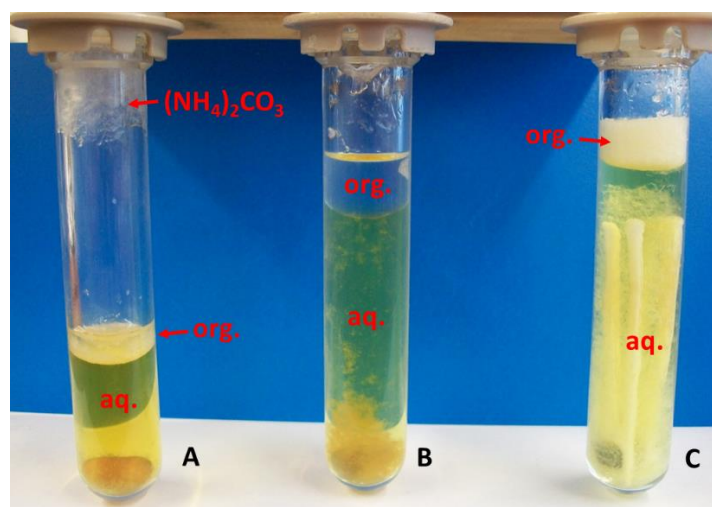
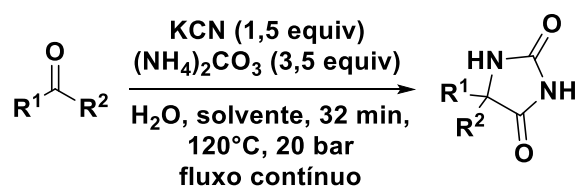


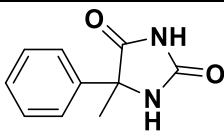
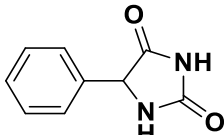
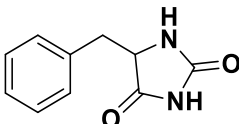
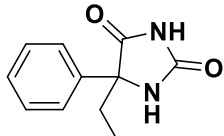
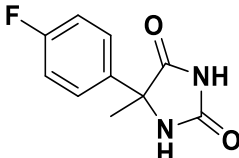
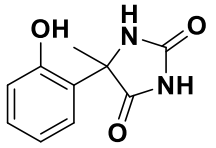
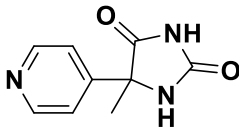
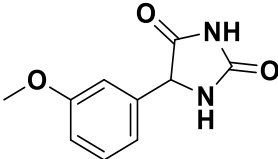
FIGURA 3.5: Imagem das reações testes em micro-ondas

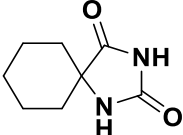
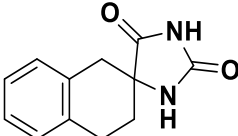
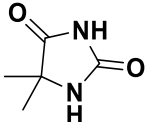
Em seguida, o escopo da reação foi avaliado com vários compostos carbonílicos aromáticos e alifáticos para obtenção das hidantoínas. A maioria das cetonas e aldeídos utilizados resultaram nos produtos desejados sem posterior reotimização das condições, em ótimos rendimentos (Tabela 3.22, Entradas 1-7). Em alguns casos, como para os exemplos **20h** e **20i**, fez-se necessária a diminuição da concentração dos substratos afim de evitar o entupimento do sistema, devido à baixa solubilidade dos produtos no meio reacional (Tabela 3.22, Entradas 8-9). No caso do composto **20j**, além da diminuição da concentração do substrato houve também a necessidade da adição de um co-solvente para a passagem do produto pelo reator em fluxo sem problemas de precipitação (Tabela 3.22, Entrada 10). Devido à importância industrial do composto **20k** (DMH),¹⁶² foi realizada a síntese em maior escala deste composto sem adição de solvente orgânico. O resultado foi bastante satisfatório, principalmente pela quantidade de DMH formada (4,31g, 20 mmol h⁻¹), em curto tempo reacional, de forma segura e mais eficiente que a metodologia convencional, em que são relatados rendimentos entre 40-60%^{163,164} (Tabela 3.22, Entrada 11). Cabe ressaltar que não foram observados os seguimentos derivados das duas fases líquidas, devido à miscibilidade entre a acetona e a água.

As hidantoínas sintetizadas pela reação de Bucherer-Bergs foram caracterizadas por RMN, ponto de fusão e HRMS quando inéditas. Os espectros de RMN ¹H dos compostos 5-substituídos apresentaram o sinal característico referente ao hidrogênio no C5 em torno de δ 4,03-4.55 ppm. No caso dos compostos 5,5-disubstituídos foram observados os sinais referentes aos substituintes das cetonas utilizadas. A partir dos espectros de RMN ¹³C desses compostos foi possível constatar a presença dos dois carbonos carboxílicos em deslocamentos químicos em torno de δ 156 e δ 176 ppm.

TABELA 3.22: Escopo da reação de Bucherer-Bergs em fluxo contínuo.



Entrada	Composto	Estrutura	Solvente	C [mol L ⁻¹] ₁ ^a	Rend. (%) ^b
1	20a		EtOAc	5	91
2	20e		EtOAc	5	91
3	20f		EtOAc	5	72
4	20g		EtOAc	5	90
5	20h		EtOAc	5	78
6	20i		EtOAc	5	95
7	20j		EtOAc	5	88
8	20k		EtOAc	3	92

9	20l		EtOAc	2	99
10	20m		DMF:EtOAc (2:1)	0,5	96
11	20d		-	13,7	82 (20 mmol h ⁻¹)

^a Concentração do substrato na linha A. ^b Rendimentos isolados após extração líquido-líquido.

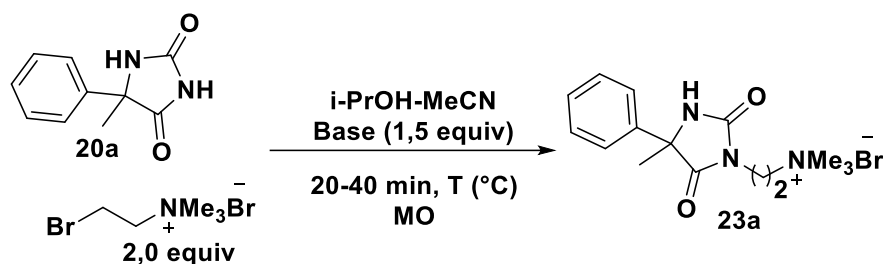
3.2.6 - Síntese dos derivados de hidantoínas N(3)-substituídos

Baharloo e col. demonstraram que sais derivados do donepezil apresentam significativa atividade frente à AChE através da interação do anel piperídínico e da porção indanona com a enzima. No mesmo trabalho, o grupo descreveu a síntese de uma coleção de sais de benzofuranonas e benzofuranos, também com potencial inibitório contra a enzima em questão.²⁹ Outros sais orgânicos contendo o anel piridínico carregado positivamente e sais derivados de diidroquinonas já foram relatados com potencial inibição da enzima acetilcolinesterase.^{30,31}

Com base no exposto acima na estrutura da ACh, foram sintetizadas hidantoínas N(3)-substituídas na tentativa de potencializar a atividade enzimática dos compostos sintetizados.

Uma vez que a estrutura da acetilcolina apresenta o nitrogênio carregado positivamente ligado a três metilas e dois carbonos de distância do grupo acetil, testou-se, a princípio, a reação entre o composto **20a** com brometo de (2-bromoetil)trimetilamônio. Alguns testes de temperatura, tempo reacional e base foram realizados, sem sucesso. Em nenhuma das reações testadas foi possível o isolamento do produto, ora devido à baixa conversão analisada por CLAE, consequência do impedimento estérico exercido pelas metilas ligadas ao nitrogênio, ora pela semelhança de solubilidade do sal reagente e do produto, que inviabilizou a recristalização do mesmo (Tabela 3.23).

TABELA 3.23: Tentativa de obtenção dos sais de derivados da hidantoína **20a** com brometo de (2-bromoetil)trimetilamônio.

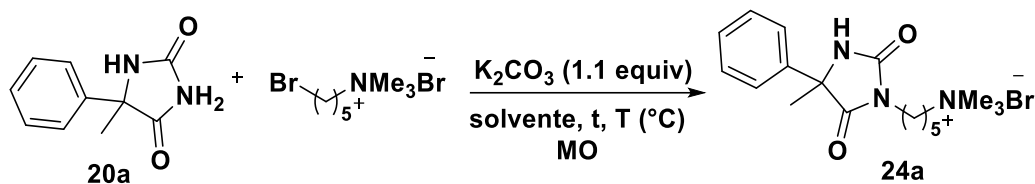


Entrada	Base	Temp. (°C)	t (min)	Conv. (%)
1	KOH	120	20	21
2	KOH	140	20	33
3	K ₂ CO ₃	140	20	64
4	K ₂ CO ₃	140	40	62

Silva *et al.* publicaram problemas estéricos similares na reação de *N*-alquilação de derivados da riboflavina com cloretos de amins quaternárias de cadeias alifáticas pequenas.¹⁶⁵ Com base nos resultados promissores descritos por este grupo com o uso de sais de amina quaternários de cadeias longas, decidiu-se testar a reação com (5-bromopentil)trimetilamônio. Neste caso, devido à maior distância entre a porção catiônica e o carbono α -halogênio, o substrato é mais reativo para a reação de substituição nucleofílica. Os resultados com o sal de amônio quaternário de cadeia longa foram melhores e a partir dos resultados prévios, optou-se por utilizar carbonato de potássio como base para a otimização da reação (Tabela 3.24).

Apesar do DMF ser bastante empregado em reações de alquilação,¹⁶⁶ e das ótimas conversões obtidas para essa reação, escolheu-se acetonitrila como solvente pela facilidade de purificação do produto por precipitação, visto a insolubilidade das hidantoínas *N*-alquiladas nesse solvente a temperatura ambiente.

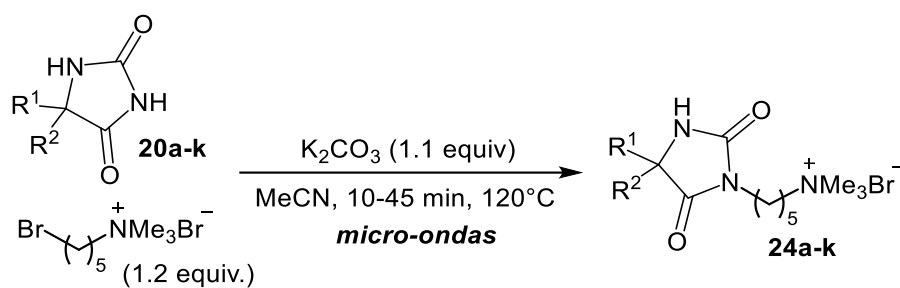
TABELA 3.24: Otimização da reação de monoalquilação para formação das hidantoínas *N*(3) substituídas.



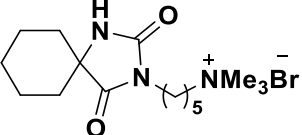
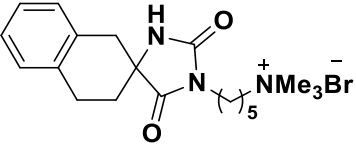
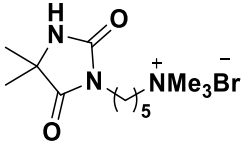
Entrada	Solvente	Temp. (°C)	RN ⁺ Br (Equiv.)	tempo (min)	Conv. (%)
1	DMF	100	2,0	30	>99
2	DMF	100	1,5	30	>99
3	DMF	100	1,2	30	>99
4	DMF	100	1,2	20	>99
5	DMF	100	1,2	10	>99
6	MeCN	100	1,2	20	99
7	MeCN	100	1,2	10	96
8	MeCN	120	1,2	20	>99
9	MeCN	120	1,2	10	>99
10	MeCN	120	1,2	5	99
11	MeCN	120	1,2	1	96
12	MeCN	120	1,0	10	92

Com as condições ótimas definidas, todas as hidantoínas sintetizadas em fluxo contínuo foram submetidas à reação de monoalquilação. Entretanto, para os demais exemplos, um acréscimo para 30-45 minutos do tempo reacional foi necessário para a obtenção dos produtos de interesse em bons a moderados rendimentos. As reações com os compostos **20b** e **20h** resultaram em sais insolúveis e os respectivos espectros de RMN não puderam ser obtidos. Além disso, a reação com a hidantoína **20g** resultou numa mistura complexa e não foi possível o isolamento do produto (Tabela 3.25).

TABELA 3.25: Escopo reacional da síntese das hidantóinas *N*(3)-substituídas.



Entrada	Composto	Estrutura	Rend. (%) ^c
1	24a		66
2 ^a	24b		nd
3	24c		48
4	24d		82
5	24e		52
6	24f		65
7	24g		nd
8	24h		nd

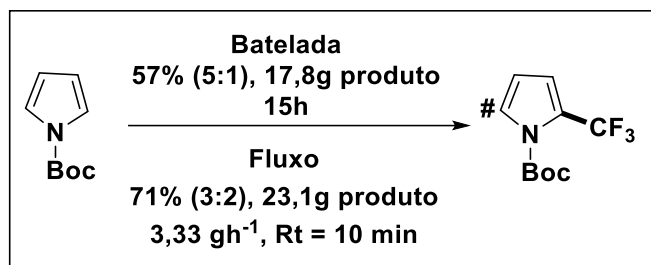
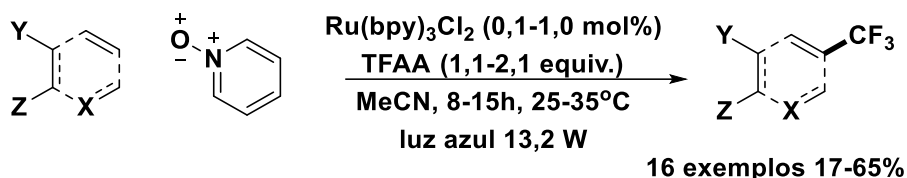
9	24i		58
10	24j		40
11	24k		58

^a Foi obtido um sólido branco insolúvel que inviabilizou a análise por RMN. ^b Não foi possível o isolamento do produto. nd = não determinado

3.3 - Trifluormetilação de heterociclos em fluxo contínuo

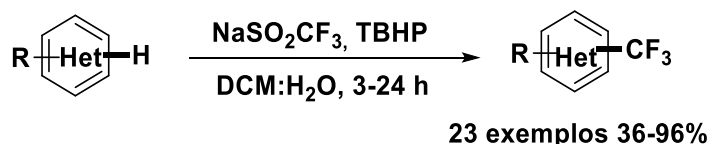
Devido ao crescimento do número de compostos trifluormetilados em estudos de descobrimento de novos fármacos e agroquímicos, esforços têm sido dedicados ao desenvolvimento de metodologias sintéticas para a inserção do grupamento CF₃ em compostos orgânicos. As metodologias clássicas para introdução direta do grupo fluorado baseiam-se em acoplamentos cruzados, mediados por metais de transição, de compostos aromáticos ativados com fontes eletofílicas ou nucleofílicas de CF₃.¹⁶⁷

Além disso, os compostos trifluormetilados também podem ser obtidos através de reações de ativação C-H de arenos e heteroarenos não ativados, por meio de reações radiculares.¹⁶⁸ Em 2015, Stephenson *et al.* descreveram uma metodologia de trifluormetilação direta de compostos aromáticos com o uso de um fotocatalisador de Ru, anidrido trifluoracético e *N*-óxido de piridina como auxiliar redox de sacrifício. Os autores demonstraram a aplicabilidade da metodologia desenvolvida com 20 exemplos, sendo 4 realizados em escala de 5 gramas. Além disso, para a reação com o *N*-Boc-pirrol, o grupo descreveu uma comparação entre o processo em batelada e em fluxo contínuo. Em ambos os casos, entretanto, foi observada a formação de produtos bis-substituídos, representado por # no Esquema 3.19.¹⁶⁹



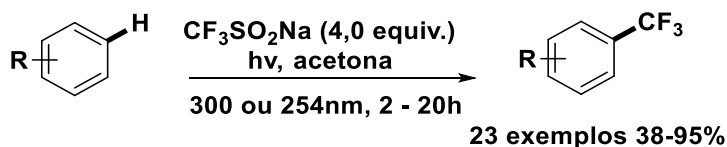
ESQUEMA 3.19: Reação de trifluormetilação de arenos e heteroarenes fotocatalisada.

Outro exemplo de reação radicalar para obtenção de heteroaromáticos trifluormetilados foi reportado pelo grupo do Professor Baran. Neste trabalho, os autores desenvolveram uma metodologia utilizando trifluormetanossulfinato de sódio (NaCF_3SO_2) como fonte de flúor e *tert*-butil hidroperóxido (TBHP) como oxidante (Esquema 3.20).¹⁷⁰



ESQUEMA 3.20: Trifluormetilação de heteroaromáticos através de substituição aromática homolítica com NaSO_2CF_3 .

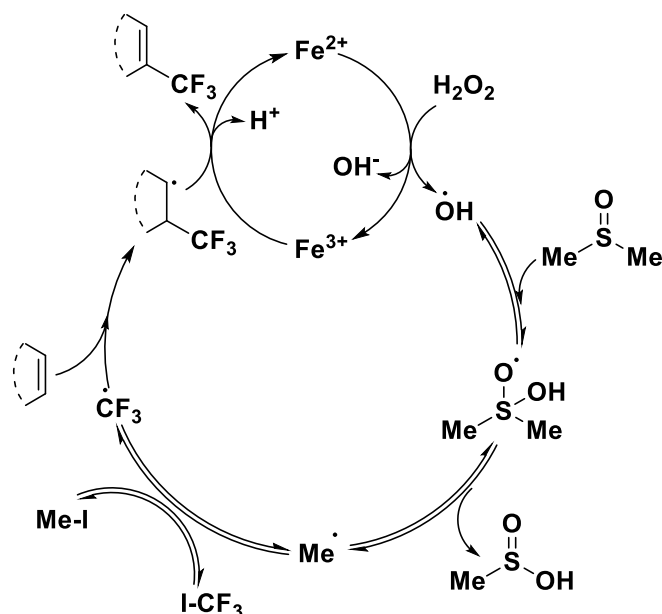
Recentemente, o uso de NaCF_3SO_2 como reagente para essa transformação também foi descrita por Li *et al.* Neste caso, entretanto, os autores apresentaram uma metodologia em que se utiliza compostos carbonílicos como a acetona como iniciador radicalar, livre de metais e oxidantes (Esquema 3.21).¹⁷¹



ESQUEMA 3.21: Reação de trifluormetilação de arenos e heteroarenes fotoinduzida.

Apesar da existência de uma gama de metodologias para obtenção dos compostos trifluormetilados tanto em batelada como em fluxo contínuo, neste trabalho a reação do tipo Minisci foi estudada e aperfeiçoada para a perfluor-substituição de indóis e pirróis, visto a promissora atividade inibitória frente a AChE que esses heterociclos apresentam.²⁶ A formação de radicais derivados de haletos de arila e alquila, na presença de DMSO, catalisador de Fe(II) e H₂O₂ foi primeiramente descrita por Minisci em 1988.¹⁷² Essa metodologia tem como vantagens a simplicidade experimental, que dispensa o uso de condições anidras, e o baixo custo do sistema catalítico (reagente de Fenton). Além disso, o método apresenta grande versatilidade, sendo tolerante tanto a iodetos precursores de radicais ricos em elétrons, que adicionam à olefinas ou bases heteroaromáticas eletrofílicas,¹⁷² quanto ao uso de radicais deficientes em elétrons que reagem com alcenos ou compostos aromáticos ricos em elétrons.¹⁷³

O mecanismo da reação do tipo Minisci para obtenção de compostos trifluormetilados, por exemplo, envolve reações sequenciais extremamente rápidas e exotérmicas.¹⁷² A sequência que leva a geração do radical derivado do substrato iodado inicia-se a partir da oxidação do H₂O₂ pelo catalisador de Fe(II), em uma reação conhecida como reação de Fenton. O radical hidroxila formado, altamente reativo, reage com o DMSO que está em excesso no meio reacional, diminuindo a ocorrência de reações colaterais com outros reagentes. O radical tetraédrico formado se decompõe, levando ao ácido metilsulfínico e ao radical metila. Através de métodos de detecção óticos e de condutividade, determinou-se que essas duas últimas etapas se completam em aproximadamente 50 ns.¹⁷⁴ Em seguida, o radical metila reage com o iodeto precursor, formando o radical CF₃, que se adiciona à dupla ligação do substrato. A etapa final do mecanismo consiste na oxidação do produto formado e regeneração do sistema catalítico (Esquema 3.22).



ESQUEMA 3.22: Ciclo catalítico da reação de Minisci com reagente de Fenton e trifluor-iodometano.

Devido ao caráter rápido e exotérmico dessa reação, as condições reacionais utilizadas em batelada apresentam alguns inconvenientes práticos, como por exemplo, a adição lenta de H_2O_2 por longos períodos à baixa temperatura, o que dificulta o controle exato do tempo reacional. Uma vez que essa reação se completa em menos de um segundo,^{172b,175} a reatividade dos substratos não pode ser explorada pelas metodologias convencionais, devido à elevada temperatura promovida pelo contato dos reagentes e a limitada transferência de massa e energia características desses experimentos.^{176,177} Além disso, uma vez que grande excesso do oxidante é descrito para obtenção dos compostos de interesse, o escalonamento reacional em batelada é, em alguns casos, limitado pela iminência de explosão devido aos gradientes de temperatura.¹⁷⁸

Tendo em vista a versatilidade desta reação e a possibilidade da obtenção dos indóis e pirróis perfluorados em uma única etapa reacional, foi realizado o estudo da reação do tipo Minisci em microreatores de fluxo contínuo. Desta forma, além da obtenção dos compostos de interesse de forma mais segura, independente da escala reacional, maiores detalhes sobre o tempo reacional da reação, e a formação de regioisômeros e subprodutos bis-substituídos puderam ser avaliados.

O estudo sistemático da reação foi iniciado com 3-metilindol como substrato, trifluor-iodometano como haleto eletrofílico, e a solução de Fenton como iniciador radicalar. A princípio, um sistema composto por duas bombas seringas de

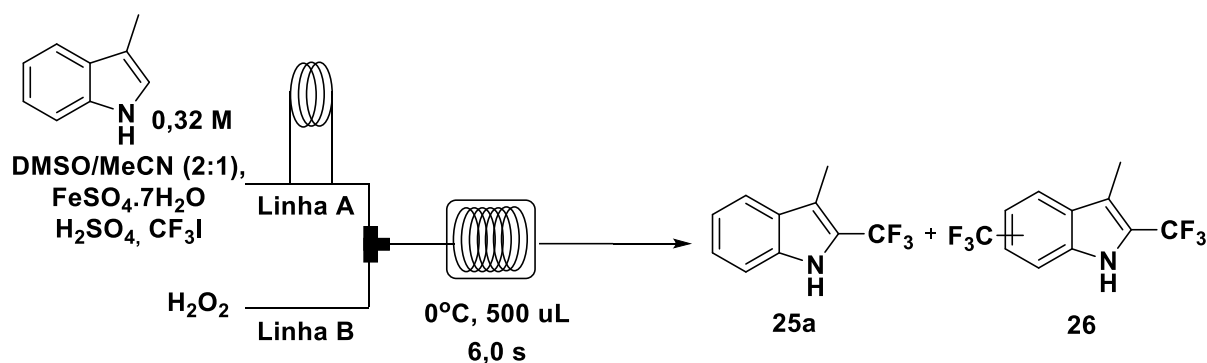
alta pressão foi montado, sendo a linha A responsável pela introdução da mistura reacional com o substrato, através de um *loop* de amostra (3,0 mL de volume interno), e a linha B pelo transporte do oxidante. As linhas foram conectadas por um misturador Y, ligado a um reator tubular (500 μ L de volume interno) mantido a 0°C, devido ao caráter exotérmico da reação. Após 6 segundos de tempo de residência, a mistura reacional foi então coletada em um frasco contendo solução saturada de NaHCO₃ (Tabela 3.26).

Cabe ressaltar que mesmo com o uso do 3-metilindol, que apresenta apenas uma posição ativada para a substituição homolítica, foi possível observar em todos os experimentos produtos colaterais decorrentes da bis- e trissubstituição do radical trifluormetil no anel aromático (**26**). Sendo assim, a porcentagem de formação apenas do produto mono-substituído é dada através da seletividade mostrada na Tabela 3.26.

A reação de trifluormetilação em batelada é normalmente descrita em tempos reacionais em torno de 20 minutos e com o uso de elevadas quantidades de catalisador de ferro (30 – 60 mol%) devido, principalmente a ocorrência de reações colaterais entre os radicais gerados *in situ*.¹⁷⁷ Após aumento gradual da quantidade do sal de ferro até 80 mol%, foi observado um efeito positivo na conversão e na seletividade da reação até 40 mol% de catalisador (Tabela 3.26, Entradas 1-3).

O segundo parâmetro avaliado foi a quantidade do ácido sulfúrico. Chang *et al.* compararam a reatividade da piridina e do íon piridinium na reação de substituição homolítica com o radical fenila e constataram melhores resultados, em relação à conversão e seletividade para a reação realizada com íon.¹⁷⁹ A partir desses resultados, e com base em cálculos teóricos que indicaram alta regioseletividade para a posição 2 dos íons piridinium e imidazolium em reações de Minisci tradicionais,¹⁸⁰ os autores sugeriram que as espécies iônicas podem orientar a substituição radicalar em sistemas heteroaromáticos, levando a formação majoritária de um dos regioisômeros.¹⁷⁶ No caso da reação de trifluormetilação estudada, o ácido sulfúrico foi utilizado para prevenir a rápida oxidação do catalisador de Fe(II) durante o preparo da mistura reacional, e para auxiliar na solubilidade da mesma. Através dos resultados obtidos pela gradual modificação da estequiometria do ácido, optou-se por dar continuidade à otimização da reação com 0,8 equiv. de H₂SO₄ (Tabela 3.26, Entrada 5).

TABELA 3.26: Otimização da reação do tipo Minisci em fluxo contínuo



Entrada	FeSO ₄ ·7H ₂ O [equiv]	H ₂ SO ₄ [equiv]	CF ₃ I [equiv]	H ₂ O ₂ [equiv]	A/B [mLmin ⁻¹]	Conv. ^a [%]	Selec. ^a [%]
1	0,1	0,7	1,2	2,0	4,70/0,30	56	92
2	0,4	0,7	1,2	2,0	4,70/0,30	90	83
3	0,8	0,7	1,2	2,0	4,70/0,30	83	80
4	0,4	0,4	1,2	2,0	4,70/0,30	87	82
5	0,4	0,8	1,2	2,0	4,70/0,30	91	83
6	0,4	1,0	1,2	2,0	4,70/0,30	85	83
7	0,4	0,8	1,2	1,6	4,75/0,25	89	83
8	0,4	0,4	1,6	0,7	4,89/0,11	63	87
9	0,4	0,4	1,6	3,0	4,55/0,45	89	84
10	0,4	0,8	1,6	1,6	4,75/0,25	92	84

^a Conversões determinadas por CLAE ($\lambda = 215 \text{ nm}$).

Resultados preliminares não publicados do grupo do Professor Kappe, demonstraram que o uso de excesso de trifluor-iodometano (2 - 6 equiv.) na reação em batelada não proporcionou aumento na conversão da reação, mas sim diminuição da seletividade da reação pela formação dos subprodutos bis- e trissubstituídos. Por esse motivo, apenas uma modificação na quantidade do precursor para 1,6 equiv. foi avaliada. Embora o aumento da quantidade de trifluor-iodometano não tenha proporcionado resultados muito diferentes daqueles obtidos com 1,2 equiv., optou-se por manter a estequiometria de 1,6 equiv. do reagente de iodo, visando a ampliação do escopo reacional com substratos possivelmente menos reativos que o 3-metilindol.

Finalmente, a quantidade ótima de peróxido de hidrogênio foi determinada. Diferentemente do grande excesso de oxidante utilizado em reações do tipo Minisci

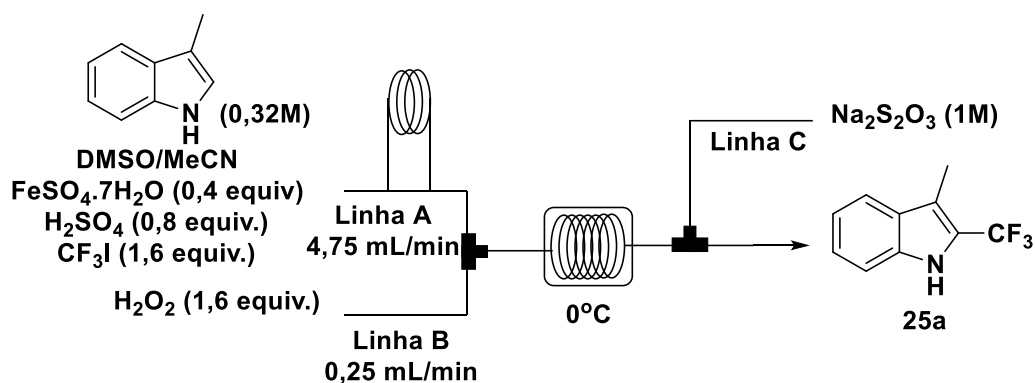
em batelada,^{177a,181} observou-se que através da metodologia em fluxo contínuo, o uso de 1,6, 2,0 ou 3,0 equiv. de peróxido de hidrogênio não influenciou de forma significativa os resultados (Tabela 3.26, Entradas 6-10). Sendo assim, as condições ótimas para a trifluormetilação do 3-metilindol foram determinadas como sendo 0,4 equiv de catalisador, 0,8 equiv. de H₂SO₄, 1,6 equiv. de trifluor-iodometano e 1,6 equiv. de H₂O₂ (Tabela 3.26, Entrada 10).

De forma geral, toda a otimização da estequiometria da reação proporcionou resultados bastante similares com relação a conversão e seletividade, não sendo observada melhorias significativas mesmo com as variações estudadas. Desta forma, duas hipóteses que explicariam os resultados praticamente constantes foram avaliadas: a ineficiência do *quench out-line* com NaHCO_{3(sat)} em parar a reação no frasco coletor e a rapidez da reação, que possivelmente já havia terminado antes dos 6 segundos, impossibilitando o controle exato da conversão e seletividade no momento final da reação.

Para avaliar essas hipóteses, um novo sistema em fluxo contínuo foi montado: as duas linhas relacionadas à solução inicial (linha A) e ao peróxido de hidrogênio (linha B) mantiveram-se conectadas como no primeiro sistema. Uma terceira bomba (linha C) contendo solução 1M de Na₂S₂O₃ foi conectada por um misturador Y na saída do reator tubular, permitindo o rápido *quench* da mistura reacional *in-line*. Além disso, reatores tubulares de diferentes tamanhos foram utilizados com o intuito de controlar tanto o tempo de residência, como a formação de subprodutos bis-substituídos.

Utilizando as condições ótimas desenvolvidas, resultados excelentes de conversão e seletividade foram observados em tempos de residência menores ou iguais a 2 segundos (Tabela 3.27, Entradas 2-4). Além disso, o experimento em 2,0 segundos apresentou resultado praticamente igual ao obtido em 6,0 segundos em relação a conversão e seletividade, evidenciando a dificuldade em se prevenir a formação dos subprodutos polissubstituídos (Tabela 3.27, Entrada 2).

TABELA 3.27: Otimização do tempo de residência com trifluor-iodometano



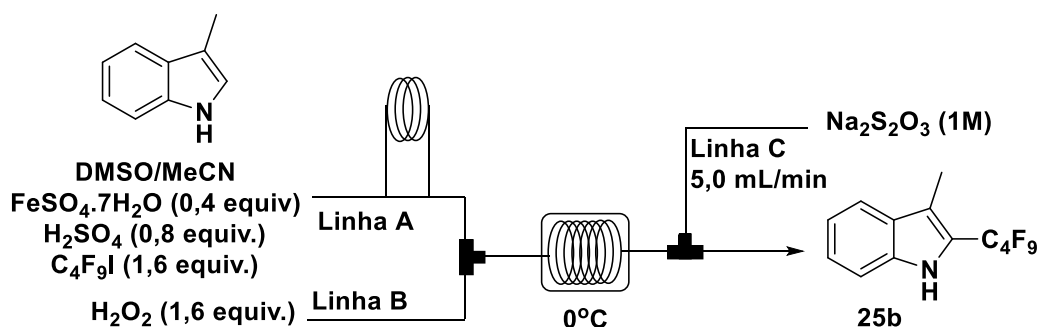
Entrada	Reator [μL]	t.r [s]	Conv. [%] ^a	Seletiv. [%] ^a
1	500	6,0	92	84
2	170	2,0	95	80
3	87	1,0	88	80
4	41	0,5	70	87

^a Porcentagens de conversão e seletividade determinados por CLAE (λ 215 nm).

Com relação à seletividade da reação, foi possível observar que a formação de produtos colaterais também acontece de forma extremamente rápida, e se mantém constante após alguns segundos. Os resultados obtidos com ambos os eletrófilos estão de acordo com as características descritas para essa ativação C-H: as reações de Minisci são reportadas como sendo extremamente rápidas nos primeiros milissegundos e tendem a parar após instantes, sem que haja melhoria nos rendimentos, mesmo com nova adição de reagentes, maiores tempos reacionais e/ou aquecimento da reação.¹⁷⁶

A partir dos resultados obtidos sobre a importância dos primeiros milissegundos na reação, optou-se por estudar a eficiência do misturador Y. Devido à grande diferença entre as vazões das duas bombas (4,75 na linha A e 0,25 mL min⁻¹ na linha B), e ao fato da reação se processar em algumas frações de segundos, a ineficiência do misturador poderia influenciar significativamente na estequiometria e conseqüentemente, na eficiência e reprodutibilidade da reação.

TABELA 3.28: Otimização do tempo de residência com o nonafluor-1-iodobutano



Entrada	Reator [μL]	A/B [mL min^{-1}]	t.r [s]	Conv. [%] ^a	Seletiv. [%] ^a
1	4	4,75/0,25	0,045	51	96
2	8	4,75/0,25	0,1	61	92
3	87	4,75/0,25	1,0	94	93
4	330	4,75/0,25	4,0	84	93

^a Porcentagens de conversão e seletividade determinados por CLAE (λ 215 nm).

Sendo assim, os reatores tubulares foram substituídos por dois microchips de volumes internos diferentes. Nesses sistemas, as linhas A e B estavam diretamente ligadas ao reator, sem a necessidade do misturador Y (Figura 3.6).

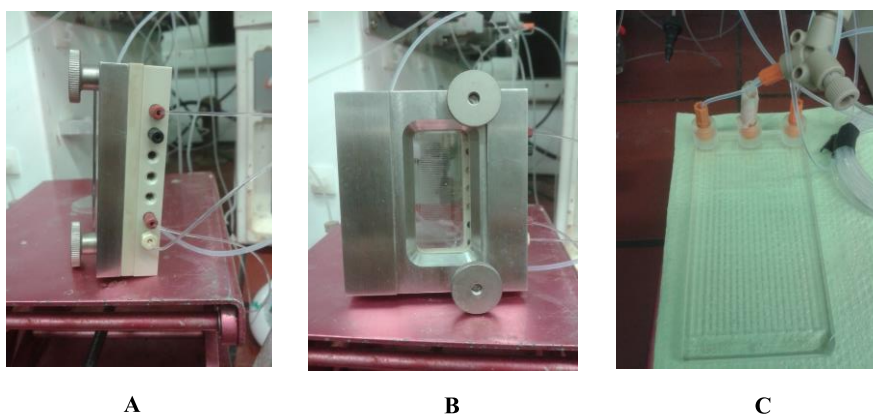


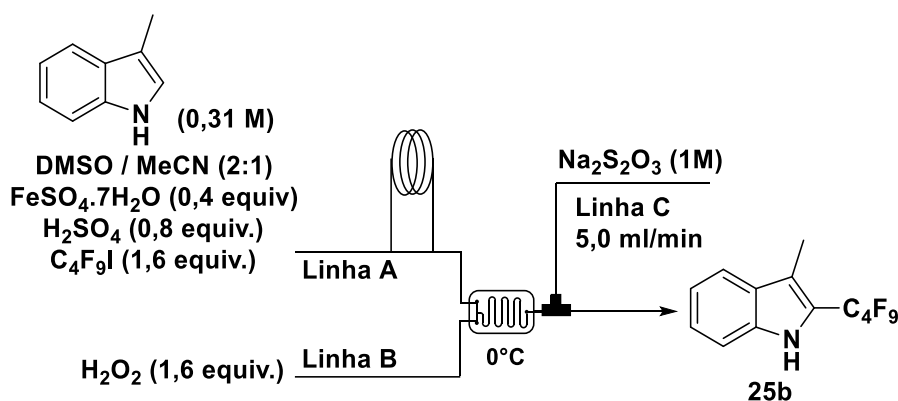
FIGURA 3.6: Microchips usados na reação de funcionalização C-H. A, B: Microchip Chemtrix; C: Microchip Uniqsis.

De forma geral, o uso de microchips como reatores de fluxo contínuo proporciona maior superfície de contato entre os reagentes, uma vez que as linhas conectadas às bombas de alta pressão são ligadas diretamente aos microcanais não-lineares do reator. Sendo assim, a geometria dos micro-reatores garante uma mistura

turbulenta mais rápida e eficiente daquela encontrada em reatores tubulares lineares ligados a misturadores em Y ou T.

O primeiro experimento com o microchip da Uniqsis (1,8 mL de volume interno) foi realizado em 22 segundos à temperatura ambiente e resultou em uma conversão de 94% e seletividade de 90% (Tabela 3.29, Entrada 1). As reações à temperatura ambiente, à 0°C e com o dobro da vazão final (10 mL min⁻¹) apresentaram conversões e seletividades praticamente iguais, não sendo verificada a influência do misturador em nenhum dos três experimentos (Tabela 3.29, Entradas 1-3). Novamente, para os experimentos subsequentes a temperatura do reator foi mantida à 0°C, devido ao caráter altamente exotérmico da reação.

TABELA 3.29: Otimização do tempo de residência com os microchips.



Entrada	Reator [μL]	A/B [mL min^{-1}]	t.r [s]	Conv. [%] ^a	Seletiv. [%] ^a
1 ^b	1800	4,75/0,25	22,0	94	90
2	1800	4,75/0,25	22,0	95	92
3	1800	9,5/0,5	11,0	93	93
4	19	0,95/0,05	2,7	93	94
5	19	1,9/0,1	0,6	92	93
6	19	3,8/0,2	0,3	95	93

^a Conversão determinada por CLAE (λ 215 nm). ^b Reação realizada à temperatura ambiente.

Com o intuito de avaliar a eficiência do misturador do microchip de menor volume interno, as mesmas condições reacionais foram empregadas, em vazões compatíveis à pressão interna desse microrreator. Os experimentos com vazões iguais a 1,0, 2,0 e 4,0 mL/min levaram às mesmas conversões e seletividades obtidas com o microchip da Uniqsis e com o reator tubular de 87 μL . Sendo assim, não foi

observada influência do misturador para a reação modelo de perfluoro-substituição do 3-metilindol. Além disso, em todas as reações realizadas, tanto com os microchips como com os reatores tubulares, não foi possível controlar a formação de subprodutos bis- e tris-substituídos, mesmo em tempos de reação inferiores a um segundo. Com base nos resultados discutidos, é possível afirmar que a reação se processa completamente em aproximadamente 0,3 segundos, sendo observado após esse período conversões e seletividades similares até 22 s.

O estudo do escopo da reação foi realizado com o microchip da Uniqsis apenas para facilitar o manuseio das bombas durante a reação e evitar entupimentos e gradientes de pressão. Desta forma outros derivados de indois e pirróis foram submetidos às condições desenvolvidas para a reação do tipo Minisci em fluxo contínuo (Tabela 3.30).

De forma geral, os produtos foram obtidos com ótimas conversões e seletividades, em bons a ótimos rendimentos. Excelentes seletividades foram obtidas nas reações do 1-fenilpirrol com ambos radicais eletrofílicos, demonstrando a elevada reatividade deste substrato nas condições reacionais empregadas. Deve-se notar, entretanto, a baixa seletividade da reação com o indol, decorrente da presença do hidrogênio no C3, também susceptível à reação de substituição homolítica, e consequente formação dos dois regioisômeros em quantidades quase equivalentes (Tabela 3.30, Entradas 3 e 4). Além disso, foi possível isolar o regioisômero minoritário da reação com o 2-pirrol carboxilato de metila, em 8% de rendimento (Tabela 3.30, Entrada 7). Os resultados demonstrados na Tabela 3.30 estão em concordância com os rendimentos descritos em batelada para a reação do tipo Minisci com bases heteroaromáticas ricas em elétrons.^{177a}

Diferentemente das reações de Minisci convencionais, em que efeitos polares dominam a seletividade da mesma, as reações com radicais elétron-deficientes são governadas pela combinação vários de fatores, dentre os quais se destacam as características estéricas e eletrofílicas do radical.^{182,183} Estudos sobre a adição radicais perfluoroalquis de diferentes tamanhos demonstraram uma relação linear entre a eletrofílicidade do radical e a seletividade da reação, isto é, radicais mais eletrofílicos resultaram em reações mais seletivas.^{168b}

TABELA 3.30: Escopo da reação do tipo Minisci em fluxo contínuo

Substrato
 DMSO / MeCN (2:1)
 FeSO₄·7H₂O (0,4 equiv)
 H₂SO₄ (0,8 equiv.)
 RI (1,6 equiv.)
 H₂O₂ (1,6 equiv.)

Linha A
 4,75 mL/min

Linha B
 0,250 mL/min

1,8 mL
 rt = 22s

Linha C
 5,0 mL/min

Na₂S₂O₃ (1M)

Produto

Entrada	Composto	Estrutura	Conv.[%] ^a	Seletiv. [%] ^a	Rend. [%]
1	25a		92	84	60
2	25b		93	93	71
3	25c		77	47	34
4	25d		74	30	30
5	25e		96	98	90
6	25f		93	90	66
7	25ga		84	81	53

^a Conversão determinada por CLAE ($\lambda = 215 \text{ nm}$)

Com o intuito de ampliar o escopo reacional, outros substratos derivados de indoís e pirróis, além da 4-hidroxicumarina e da cumarina, foram submetidos à metodologia desenvolvida em fluxo contínuo. Entretanto, nenhum dos casos mostrados na Tabela 3.31 forneceram bons resultados.

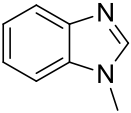
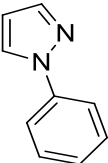
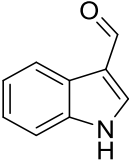
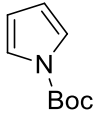
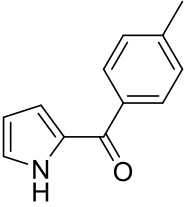
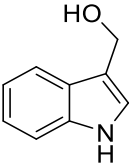
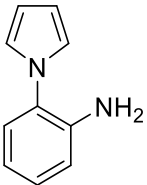
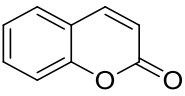
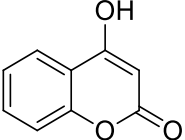
As reações com benzilimidazol, fenil-imidazol, indol-3-carboxaldeído, Boc-pirrol e *p*(toluil)metanona pirrol resultaram em baixas conversões para o produto de interesse, sendo observado grandes quantidades de material de partida após os 22 segundos de reação (Tabela 3.31, Entradas 1-5). Não foi possível avaliar a reação com o indol-3-carbinol, devido a decomposição do material de partida nas condições reacionais (Tabela 3.31, Entrada 6). Além disso, apesar da alta conversão da reação com o 1-(2-aminofenil)pirrol, a formação de regioisômeros e produtos bis- e tris substituídos impossibilitou a purificação do produto de interesse. Por fim, observou-se baixa reatividade das cumarinas nas condições reacionais empregadas (Tabela 3.31, Entradas 8 e 9).

Com base nos resultados promissores sobre a atividade dos derivados de cumarinas frente à AChE,²¹ e tendo em vista a melhoria significativa da atividade para alguns compostos trifluormetilados com relação a seus análogos sem o grupamento CF₃, outros experimentos com tempos reacionais de até uma hora foram realizados, em batelada, para obtenção das cumarinas funcionalizadas. Entretanto, em nenhum dos testes foi possível observar boas conversões para a 4-hidroxicumarina ou a cumarina.

Com o intuito de avaliar a aplicabilidade da metodologia desenvolvida, foi realizado o escalonamento da reação em fluxo com 1-fenilpirrol e ambos radicais eletrofílicos. Para esses experimentos, uma quarta bomba de alta pressão foi conectada ao sistema anterior: neste caso, duas bombas seringas (Linha A e B) consistindo na solução inicial foram conectadas a um misturador em Y e a solução combinada foi conectada ao microchip da Uniqsis; a linha C, contendo o oxidante, e a linha D, com a solução de Na₂S₂O₃, mantiveram-se conectadas como no sistema anterior.

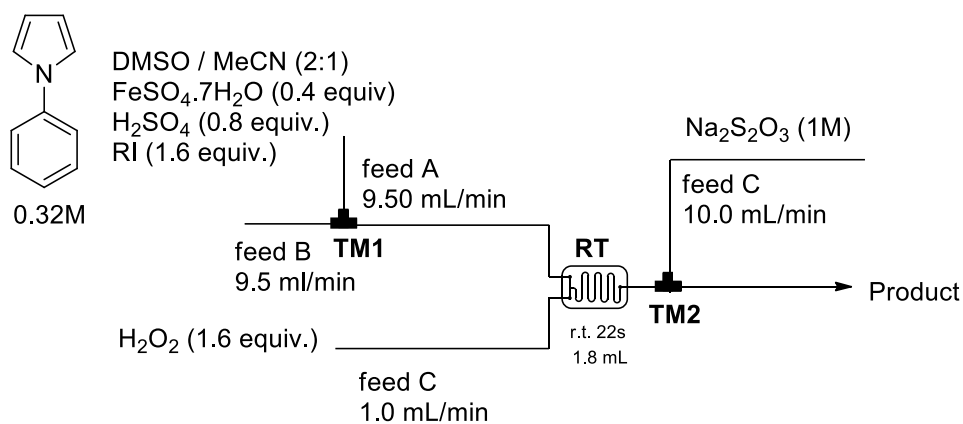
Excelentes resultados foram obtidos a partir de 10 mmol de substrato, levando a formação de aproximadamente 3,0 gramas do composto **25e** e 1,0g do **25f**, em 1,6 minutos (Tabela 3.32)

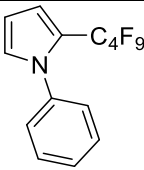
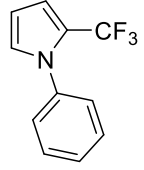
TABELA 3.31: Outros substratos avaliados na reação de Minisci em fluxo contínuo

Entrada ^a	Substrato	R-I	Conv. [%] ^a	Seletiv. [%] ^a
1 ^b		CF ₃ I	13	100
2		CF ₃ I	2.5	40
3		CF ₃ I	16	26
4		CF ₃ I	33	36
5 ^b		C ₄ F ₉ I	50	79
6		CF ₃ I	nd	nd
7		C ₄ F ₉ I	86	61
8		CF ₃ I	8	43
9 ^b		CF ₃ I	32	68

^a Conversão determinada por CLAE ($\lambda = 215$ nm). ^b Conversão determinada por CLAE ($\lambda = 254$ nm).

TABELA 3.32: Escalonamento das reações em fluxo contínuo com o 1-fenil pirrol.



Entrada	Composto	Estrutura	Conv. [%] ^a	Seletiv. [%] ^a	Rend. [%]
1	25e		94	99	83 (2,94g) (2,94g, 5,0 mmol min ⁻¹)
2	25f		96	92	63 (1,11g) (1,11g, 3,8 mmol min ⁻¹)

^aConversion determined as HPLC peak area percent at 215 nm.

A título de exemplo, a Figura 3.7 apresenta os cromatogramas obtidos nas análises por CLAE dos brutos reacionais de ambas as reações.

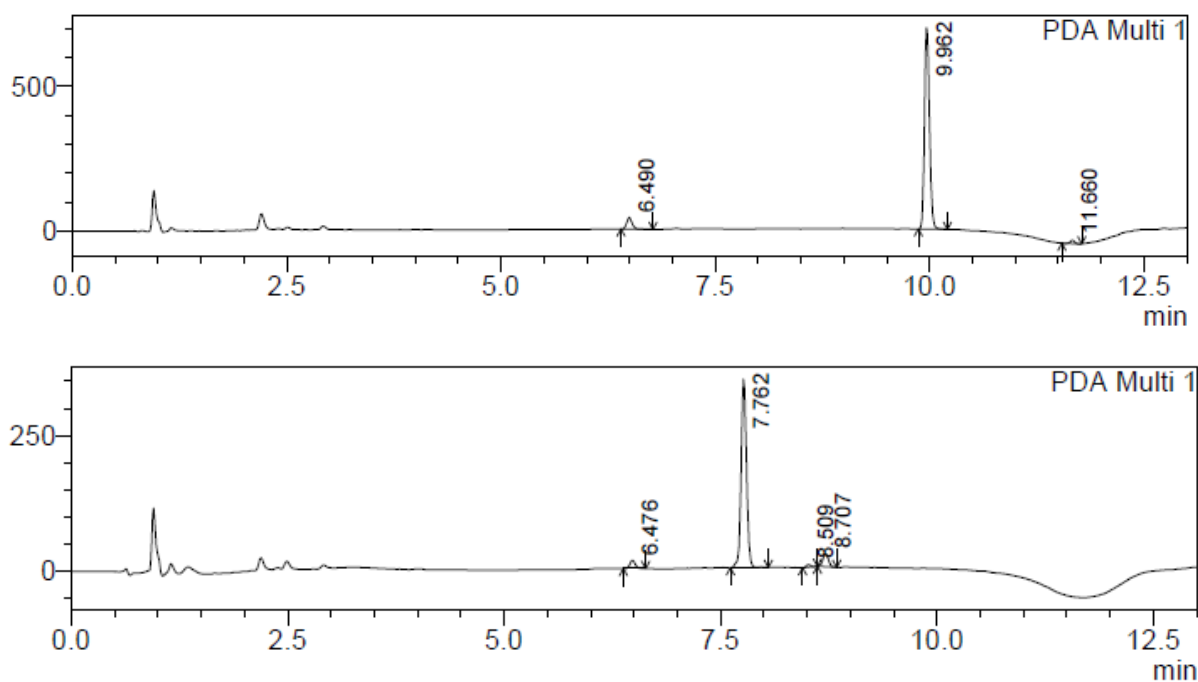


FIGURA 3.7: Cromatogramas obtidos dos brutos reacionais das reações a partir de 10 mmol de 1-fenil pirrol (t.r. 6,4 min); t.r. **25e** = 9,9 min t.r. **25f** = 7,7 min.

3.4 - Ensaios Biológicos

Tendo em mãos os compostos sintéticos, realizamos a avaliação biológica dos mesmos frente a enzima AChE em colaboração com o grupo da Profa. Quezia B. Cass do Departamento de Química da UFSCar.

3.4.1 - Imobilização da enzima em capilar de sílica fundida

A enzima AChE proveniente do peixe elétrico *Electrophorus electricus* (AChE-*ee*) é muito empregada para a triagem inicial de inibidores. Embora possua tamanho e algumas subunidades diferentes da acetilcolinesterase proveniente de eritrócitos humanos (AChE-*hu*), a AChE-*ee* apresenta algumas similaridades com a AChE-*hu* no que diz respeito à sequência de aminoácidos e às condições ótimas de trabalho.¹⁸⁴ Desta forma, com base nos relatos bem-sucedidos do uso da enzima AChE-*ee* na triagem de inibidores, além do seu menor custo, todos os ensaios foram realizados com essa enzima.

A escolha do suporte para a imobilização da enzima foi baseada em trabalhos que descrevem a utilização de capilares de sílica fundida em triagens de ligantes para a AChE-*ee* e AChE-*hu* de forma rápida e eficaz.⁴⁷ Dentre as vantagens de se utilizar esse suporte destaca-se a grande área de superfície/volume, que permite melhores interações entre enzima/substrato e enzima/inibidor.¹⁸⁵ A imobilização da enzima no suporte sólido foi realizada seguindo protocolo previamente desenvolvido por Vanzolini *et al.*²¹ A princípio, um pré-tratamento do capilar de sílica fundida foi realizado a fim de aumentar a reprodutibilidade dos ensaios: uma solução de HCl 2,0 M foi utilizada para que houvesse ativação do capilar e consequente aumento da área superficial de trabalho. Em seguida, uma solução de 3-aminopropiltriétoxissilano (APTS) foi bombeada para o interior do capilar, garantindo o capeamento dos silanóis livres na parede do tubo capilar por meio de uma reação de substituição nucleofílica entre a hidroxila e o Si do APTS.

Após a silanização, glutaraldeído foi utilizado como espaçador, garantindo a mobilidade necessária para a interação da enzima com o substrato e/ou inibidor. Por fim, a enzima foi imobilizada de forma covalente, através da reação de adição nucleofílica da amina dos resíduos de lisina ao aldeído terminal (Figura 3.8).

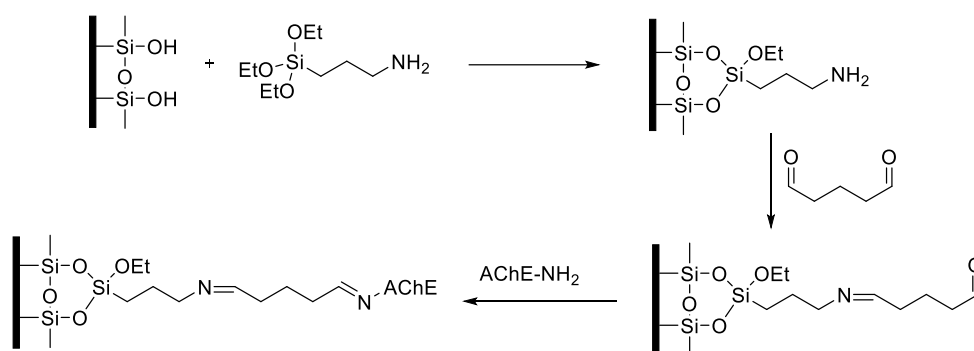


FIGURA 3.8: Reações envolvidas no protocolo de imobilização em capilar de sílica fundida.

3.4.2 – Aspectos gerais do ensaio enzimático

Os ensaios enzimáticos foram realizados através do uso do biorreator previamente preparado, como coluna cromatográfica em um sistema LC-MS. Neste caso, o acompanhamento da reação enzimática ocorre através da quantificação da produção de colina, pelo monitoramento de seu íon precursor, $[M]^+$ 104 *m/z* no

espectrômetro de massas. A Figura 3.9 ilustra o sistema utilizado nos ensaios enzimáticos, sendo a bomba A responsável por eluir uma solução de acetato de amônio (pH 15 mmol.L⁻¹, pH 8) ao sistema, e a bomba B pela eluição de metanol, potencializando a ionização da colina sem interferir na performance da enzima.

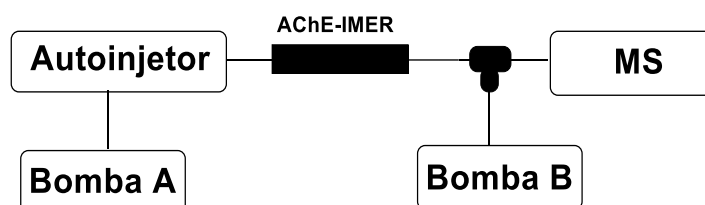


FIGURA 3.9: Ilustração do sistema LC-MS utilizado nos ensaios enzimáticos.

3.4.3 – Ensaio para a determinação da porcentagem de inibição

A primeira triagem para verificação do potencial inibitório dos compostos sintetizados forneceu resultados de porcentagem de inibição. Para isso, inicialmente foi realizado um ensaio para medir a atividade do capilar imobilizado e assim verificar se a enzima estava ativa e apta para a triagem. Assim, uma amostra de acetilcolina (substrato) na concentração de 200 µM foi injetada no sistema LC-MS ilustrado na Figura 3.8 e o íon correspondente à colina foi monitorado no espectrometro de massas. A área de colina foi calculada e correlacionada com a curva de calibração do método cromatográfico previamente validado.¹⁸⁶ As curvas analíticas utilizadas para obtenção das porcentagens de inibição foram:

$$y = (-3,04245 \times 10^8) + (1,7158 \times \ln(x + 5,90793))$$

$$y = (-3,48814 \times 10^9) + (7,31589 \times 10^8 + \ln(x + 146,767))$$

Para os ensaios de inibição deve-se garantir que os sítios ativos da enzima estejam saturados pela presença do substrato. Como reportado por Vanzolini *et al.*²¹, um valor que esteja 1,5 vezes superior ao valor da constante de Michaelis-Menten (K_M) é o suficiente para saturar os sítios ativos da enzima. Assim, a constante utilizada nos ensaios realizados foi determinada pela Dra. Kenia L. Vanzolini, através

do uso de concentrações crescentes de substrato, até saturação da enzima, sendo o valor obtido para o IMER-AChE-ee igual à $325 \pm 34,9 \mu\text{M}$.²¹

Com a concentração de substrato definida, para cada um dos compostos sintetizados como candidatos à inibidor, três amostras foram preparadas e injetadas no sistema LC-MS. A fim de garantir que não houvesse resultados falso-positivos gerados por uma possível ionização similar entre os compostos empregados na triagem e a colina, uma amostra de cada composto a $200 \mu\text{M}$ foi analisada. Em seguida, uma amostra referência contendo apenas acetilcolina foi analisada seguida da amostra final contendo a acetilcolina e o candidato a inibidor. Desta forma, a produção de colina foi monitorada na presença e na ausência dos candidatos a inibidores. Após conversão das áreas dos cromatogramas em concentração de colina produzida, através do uso das curvas de calibração do método analítico validado¹⁸⁶, o percentual de inibição pôde ser calculado de acordo com a Equação 3.1.

$$\text{EQUAÇÃO 3.1: } I (\%) = 100 - \frac{P_i}{P_0} \times 100$$

em que P_i é a produção de colina quantificada a partir da hidrólise da acetilcolina na presença dos compostos testados e P_0 é a produção de colina da amostra controle positivo.

Os primeiros ensaios foram realizados em um sistema de cromatografia líquida (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas (Bruker Daltonics) modelo Esquire 6000 equipado com uma fonte de ionização do tipo eletrospray (ESI), operando no modo positivo e analisador do tipo *ion-trap*. Nesses ensaios, a concentração da acetilcolina foi fixada como sendo igual a $1,5 \times K_M$. Sendo assim, para a avaliação da atividade inibitória das hidantoínas derivadas de aminoácidos naturais **17a-n**, hidantoínas 5,5-dissubstituídas **21a-c**, compostos híbridos **24a-d** e derivados de cumarinas **3a-e**, **4a-i** e **6a-d**, a concentração de ACh utilizada foi igual a $490 \mu\text{M}$.

Os compostos **17a-n** e **21a-c** não apresentaram atividade inibitória significativa frente à AChE-ee, visto a obtenção de porcentagens de inibição inferiores a 30%. Com relação aos compostos híbridos, embora tenham apresentado moderada atividade, especialmente o **23a** com 73% de inibição, esse valor não foi suficiente para dar continuidade aos estudos de IC_{50} e mecanismo de inibição (Tabela 3.33).

De forma geral, as porcentagens de inibição das hidroxycumarinas **3a-d**, piranocumarinas **4a-i** e adutos de Ugi **6a-d** foram maiores daquelas encontradas para

as hidantoínas, destacando-se os valores de 77% e 70% de inibição para os compostos **3a** e **4h**, respectivamente.

TABELA 3.33: Atividade inibitória dos compostos **17a-j**, **21a-c**, **22a-b**, **3a-e**, **4a-i**, **6a-d** no IMER-AChE-ee (0,125 mg/mL), a 200 µM.

Composto	Código	Inibição (%)	Composto	Código	Inibição (%)
17a	LSPN560	6	3a	LSPN267	77
17b	LSPN555	12	3b	LSPN269	41
17c	LSPN554	9	3c	LSPN268	31
17d	LSPN556	4	3d	LSPN271	55
17e	LSPN557	7	3e	LSPN270	20
17f	LSPN558	5	4a	LSPN479	25
17g	LSPN559	10	4b	LSPN480	16
17h	LSPN561	5	4c	LSPN477	30
17i	LSPN562	11	4d	LSPN478	13
17j	LSPN563	6	4e	LSPN476	52
17k	LSPN568	2	4f	LSPN482	52
17l	LSPN565	26	4g	LSPN483	31
17m	LSPN566	15	4h	LSPN484	70
17n	LSPN564	9	4i	LSPN481	54
21a	LSPN571	6	6a	LSPN491	19
21b	LSPN567	15	6b	LSPN492	16
21c	LSPN569	13	6c	LSPN493	26
22a	LSPN589	68	6d	LSPN494	25
22b	LSPN591	73	Tacrina	-	98
			Galantanina	-	96

Entretanto, de forma análoga aos primeiros resultados obtidos, as porcentagens de inibição obtidas para esses compostos não foram significativas para a continuação dos estudos de caracterização dos inibidores. Cabe ressaltar que tanto as piranocumarinas racêmicas como as enantiomericamente enriquecidas foram avaliadas, embora não tenha sido observada diferença significativa entre os resultados de inibição.

Por fim, as hidantoínas 5- e 5,5-dissubstituídas, sintetizadas pela reação de Bucherer-Bergs, **20a**, **20d**, **20g**, **20h**, **20i**, **20l**, bem como as respectivas hidantoínas (*M*)3-substituídas foram submetidas à avaliação da porcentagem de inibição. Neste caso, o ensaio foi realizado em um sistema cromatográfico de ultra eficiência Waters ACQUITY UPLC (Milford, USA), acoplado a um espectrômetro de massa modelo Xevo TQ-MS (Waters, Milford, USA) com ionização por eletrospray (ESI). Devido à maior sensibilidade do instrumento utilizado, nova validação do método analítico foi realizado pela pesquisadora Adriana M. dos Santos. Neste caso foi determinado um $K_M = 72 \mu\text{M}$ para o substrato no capilar de AChE-ee ($0,125 \text{ mg mL}^{-1}$), e a concentração do substrato no ensaio foi fixada em $2 \times K_M$. Além disso, o ensaio foi realizado com a concentração dos compostos sintetizados igual a $100 \mu\text{M}$ ao invés de $200 \mu\text{M}$ (Tabela 3.34).

TABELA 3.34: Atividade inibitória das hidantoínas e de seus sais correspondentes no IMER-AChE-ee ($0,125 \text{ mg/mL}$), a $100 \mu\text{M}$.

Composto	Código	Inibição (%)	Composto	Código	Inibição (%)
20a	LSPN553	14	24a	LSPN582	30
20d	LSPN550	19	24i	LSPN588	41
20g	LSPN572	17	24d	LSPN584	42
20h	LSPN576	11	24e	LSPN583	18
20i	LSPN577	7	24f	LSPN586	26
20l	LSPN580	18	24i	LSPN585	50
Tacrina	-	98	Galantamina	-	96

A síntese das hidantoínas *N*-3-substituídas foi planejada com o intuito de mimetizar a porção catiônica da estrutura da ACh e avaliar a influência das interações entre o nitrogênio carregado positivamente e os resíduos de aminoácidos aniônicos. A partir dos resultados obtidos, foi possível observar um aumento de 7 a 32% na porcentagem de inibição dos compostos *N*-alquilados quando comparados àqueles correspondentes às hidantoínas precursoras, embora a inibição não tenha ultrapassado o valor de 50% para nenhum dos compostos avaliados.

Conclusões e Perspectivas

4 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foram estudadas metodologias alternativas às convencionais para a síntese de algumas classes de compostos heterocíclicos, tanto em batelada quanto em fluxo contínuo.

Com relação à síntese das cumarinas e derivados, os organocatalisadores previamente desenvolvidos pelo grupo de pesquisa mostraram-se eficientes na síntese assimétrica de piranocumarinas, levando à formação dos produtos de interesse em bons rendimentos e excessos enantioméricos, tanto através de metodologia convencional, como com o uso de micro-ondas como fonte de energia.

Também foi utilizado o organocatalisador comercial de Jørgensen na síntese das piperidinocumarinas com o intuito de realizar a reação multicomponente de forma sequencial, *one-pot*, após a formação das piranocumarinas assimétricas. Através da metodologia desenvolvida, tanto piperidinocumarinas como derivados de hidroquinolinonas foram obtidos em bons rendimentos e ótimas seletividades. Além disso, foi possível observar que a diastereosseletividade da reação está diretamente relacionada à natureza da amina utilizada, uma vez que o uso de aminas volumosas levou a formação de um diastereoisômero majoritariamente, enquanto o uso de aminas alifáticas não volumosas culminou na formação de mistura de diastereoisômeros. Por fim, através de estudos de RMN ^1H , ^{13}C e 2D foi possível atribuir a configuração relativa do novo centro formado, como sendo *cis*.

A síntese das hidantoínas reduzidas foi realizada através de três etapas reacionais, sendo a formação do dímero de amino aldeído otimizada para apenas duas etapas, através de uma reação de aziridinação organocatalisada seguida da desproteção do grupamento Boc. Cabe ressaltar que essa transformação é descrita na literatura em 5 etapas reacionais partindo-se de aminoácidos naturais alifáticos. Desta forma, o protocolo sequencial desenvolvido apresentou a primeira versão da síntese assimétrica de hidantoínas reduzidas, e até o momento 7 exemplos foram sintetizados com bons rendimentos e ótimos excessos enantioméricos. A ampliação do escopo reacional para avaliação da aplicabilidade da reação com isocianatos substituídos com grupos elétron-retiradores, bem como a avaliação dos compostos frente a AChE-ee ainda são necessárias para a finalização dessa parte do trabalho.

Além disso, uma coleção de hidantoínas 5- e 5,5- substituídas foi obtida através da reação de aminoácidos naturais e isocianatos ou através da reação de Bucherer-Bergs. Com base na atividade enzimática do composto **LSPN223**, foi planejada a síntese de compostos híbridos de cumarinas e hidantoínas. Entretanto, a síntese de tais compostos utilizando hidantoínas 5-substituídas mostrou-se inviável devido a estabilidade da cumarina e a baixa eletrofilicidade das hidantoínas envolvidas na reação. Desta forma, apenas dois compostos híbridos derivados de hidantoínas 5,5-dissubstituídas foram obtidos com baixos rendimentos, mesmo após utilização de diversas condições reacionais típicas para as reações de substituição nucleofílica.

A síntese das hidantoínas através da metodologia desenvolvida em fluxo contínuo apresentou resultados bastante satisfatórios. O uso de mistura de acetato de etila e água como solvente culminou num exemplo bem-sucedido de reações bifásicas em fluxo contínuo, possibilitando a síntese dos compostos de interesse em tempos reacionais significativamente menores daqueles relatados na literatura, devido ao aumento da superfície de contato entre os reagentes e da possibilidade de condução da reação em temperaturas maiores que o ponto de ebulição do solvente. A metodologia em fluxo garantiu ainda que não houvesse desprendimento dos gases formados durante a reação através do eficiente controle da pressão interna do sistema. Desta forma, o conjunto de modificações na metodologia de Bucherer-Bergs em fluxo proporcionou hidantoínas derivadas de aldeídos e cetonas em ótimos rendimentos, e possibilitou a formação da 5,5-dimetil hidantoína, na ausência de solvente orgânico. As reações de monoalquilação dos produtos sintetizados resultaram em hidantoínas *N*-3-substituídas inéditas em rendimentos moderados a bons.

Por fim, o desenvolvimento da primeira versão da reação do tipo Minisci em fluxo contínuo foi realizada com sucesso. Através do protocolo desenvolvido, foi possível demonstrar que o processo radicalar para a trifluormetilação direta de compostos aromáticos não-ativados nas condições reacionais estudadas é extremamente rápido, obtendo-se conversões máximas em milissegundos. A partir das condições desenvolvidas, vários indóis e pirróis foram funcionalizados de forma eficiente, em 22 segundos, utilizando-se como fontes eletrofílicas o trifluor-iodometano e o nonafluor-iodobutano. Entretanto, tanto a formação de regioisômeros como de subprodutos polissubstituídos não pode ser evitada, mesmo em frações de segundos. Além disso, substratos pouco nucleofílicos, como cumarinas e formil-indóis, não foram

funcionalizados de forma efetiva, evidenciando uma limitação do método desenvolvido.

Todos os compostos sintetizados foram submetidos ao ensaio enzimático com a enzima AChE-ee imobilizada em capilar de sílica fundida. O ensaio apresentou-se como uma metodologia eficiente na triagem de ligantes, proporcionando resultados rápidos, precisos e reprodutíveis. Entretanto, a classe das hidantoínas 5- e 5,5-substituídas apresentou baixa atividade enzimática frente a enzima em questão, com porcentagens de inibição na faixa de 2-60%. As pirano-piperidino- e 4-hidroxicumarinas apresentaram atividade moderada frente à AChE (13-77%) e nenhum dos compostos híbridos apresentou atividade inibitória superior à cumarina **LSPN223** (68 e 86%, respectivamente), evidenciando a importância da piperidina na atividade enzimática do composto. No entanto, esses resultados são importantes para o estudo da relação estrutura-atividade desta classe de compostos frente à AChE.

Procedimento Experimental

5 - Procedimento Experimental

5.1 - Aspectos gerais

Os reagentes comerciais foram utilizados sem purificação. Os espectros de absorção no infravermelho foram registrados em um espectrômetro Bomem modelo M 102. Foram feitas pastilhas sólidas da amostra com KBr, que foi utilizado como branco. As absorções estão expressas em comprimento de onda (cm^{-1}).

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) foram registrados em espectrômetros Bruker ARX de 300 e 400 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Para indicar a multiplicidade dos sinais utilizou-se a seguinte abreviação: s (singleto), d (dubleto), t (tripleto), q (quadrupleto), m (multiplete).

As análises feitas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu modelo GC17A equipado com um detector modelo GCMS-QP5000 operando como uma fonte de impacto eletrônico.

O excesso de solvente do fim de cada etapa da reação e das extrações evaporados em evaporadores do tipo Büchi Rotavapor R-114 com banho Büchi Watherbath B-490,

A purificação dos compostos foi realizada por coluna cromatográfica, utilizando-se sílica gel (flash) 60, 230-400 mesh ASTM Merck e sílica gel 60 Å, 70-230 mesh Aldrich Co.

As reações em fluxo contínuo foram acompanhadas através de análises cromatográficas e as conversões e seletividades foram determinadas com uma coluna de fase reversa C-18 (150×4.6 mm, particle size $5 \mu\text{m}$) à 37°C , usando A (água/acetonitrila 90:10 (v/v) + 0,1% TFA) e B (MeCN + 0,1 % TFA) como fase móvel, em uma vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Para os compostos inéditos, espectros de massas de alta resolução HRMS foram obtidos em um instrumento LC/MS TOF equipado com uma fonte de ionização APCI, operando no modo positivo e em um equipamento MicrOTOF_Q II (Bruker), com uma fonte de ionização ESI, no modo positivo. O LC-MS do composto **24a** foi obtido através de infusão direta (ESI-FT-MS) em um aparelho LTQ Orbitrap

Velos FT-MS equipado com uma fonte de ionização eletrospray (HESI-II), no modo positivo.

Os excessos enantioméricos dos compostos **4a-j** e **6a-d** foram obtidos em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência da Shimadzu, bomba tipo LC-10 ATPv, detector UV-vis, modelo 10APV com controladora modelo SCL-10 APV. As fases estacionárias utilizadas foram a Daicel Chiralpak AD-H e OD-H e a Daicel Chiralpak OD-H. Os excessos enantioméricos dos compostos **11aa**, **11bb**, **11ac-11ae** e **15 a-g** foram determinados em um cromatógrafo convergente de ultra performance ACQUITY UPC²™, Waters Corp., Milford, MA, USA, com fases estacionárias Trefoil™ CEL1 (2.5 µm, 3 mm x 150 mm), Trefoil™ CEL2 (2.5 µm, 3 mm x 150 mm) e Trefoil™ AMY1 (2.5 µm, 3 mm x 150 mm).

Para determinação da atividade ótica, $[\alpha]_D^{25}$, foi utilizado o polarímetro da marca Schmidt Haensch, modelo Polatron H100 em um comprimento de onda de análise de 589 nm.

As reações sob irradiação de micro-ondas foram realizadas em um aparelho de modelo CEM- Discover Collmate.

Os ensaios de porcentagem de inibição dos derivados de cumarinas, das moléculas híbridas e das hidantoínas 5-substituídas foram realizados a 20 °C, em um sistema CLAE (Kyoto, Japan) equipado com duas bombas LC-20AD (loop de 500 µL), um auto-injetor SIL 20A, um degasificador DGU-20A5 e uma interface CBM-20A. O sistema foi acoplado a um espectrômetro de massas Esquire 6000 IT (Bruker Daltonics Germany) equipado com uma fonte de ionização do tipo ESI, operando no modo positivo. Os ensaios de porcentagem de inibição dos compostos **20** e **24** foram realizados em um sistema cromatográfico de ultra eficiência Waters ACQUITY UPLC (Milford, USA) composto por uma bomba binária (BSM), uma quaternária (QSM), e um injetor automático Waters 2777C acoplado a um espectrômetro de massas modelo Xevo TQ-MS (Waters, Milford, USA) com ionização por eletrospray (ESI), operando no modo positivo. Os resultados foram analisados através do software Bruker Daltonics Germany.

A imobilização da enzima foi realizada em capilares de sílica fundida de 30,0 cm de comprimento utilizando uma bomba seringa Havard Apparatus 11 Plus para o condicionamento do mesmo. No preparo das fases móveis, soluções tampão, solução dos inibidores, substrato e enzima, foi utilizada água MILLI-Q. Para os compostos que não se mostraram muito solúveis em MeOH, a homogeneização dos

mesmos foi obtida com auxílio de um ultrassom Branson 1510. A pesagem dos inibidores, bem como de todos os reagentes utilizados durante os ensaios foi realizada em uma balança analítica Sartorius, modelo TE214S, com precisão 0,0001g. A enzima AChE de *Electrophorus electricus* foi adquirida da Sigma-Aldrich.

5.2 – Síntese das 4-hidroxi-cumarinas 3a-e

Em um balão de fundo redondo de duas vias, provido de agitação magnética e atmosfera de nitrogênio, as 2-hidroxiacetofenonas (6,0 mmol) (vide Tabela 3.1) foram adicionadas à uma suspensão de NaH (1,2g, 30 mmol) em tolueno seco (17 mL). Em seguida, dissolveu-se o carbonato de dietila (1,1 mL, 9,0 mmol) em tolueno seco (3,0 mL) e a mistura foi adicionada gota-a-gota ao balão reacional. Após 3 horas de refluxo a mistura foi resfriada e o bruto reacional tratado com uma solução aquosa de ácido clorídrico 2N (20 mL). O precipitado formado foi filtrado sob vácuo e lavado com hexano (30 mL), sem posterior purificação.

4-Hidroxi-2*H*-cromen-2-ona (**3a**)^{117a}: o produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 83% (0,81g, 4,9 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 12,55 (s, 1H), 7,82 (dd, $J = 7,8, 1,6$ Hz, 1H), 7,64 (ddd, $J = 8,6, 7,3, 1,6$ Hz, 1H), 7,37 – 7,32 (m, 2H), 5,61 (s, 1H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 165,68, 161,92, 153,54, 132,72, 123,94, 123,22, 116,39, 115,83, 91,01. **IV** (ν_{\max} , filme): 3126, 3086, 2881, 2819, 2574, 2553, 1772, 1606, 1554, 1458, 1327, 1192, 1118, 948, 889, 831, 522, 499 cm^{-1} .

6-Cloro-4-hidroxi-2*H*-cromen-2-ona (**3b**)^{117a}: o produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 93% (1,1 g, 5,6 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 7,75 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1H), 7,41 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 5,75 (s, 1H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 164,65, 161,48, 152,13, 132,30, 127,94, 122,35, 118,53, 117,44, 91,72. **IV** (ν_{\max} , filme): 3126, 3086, 2574, 2553, 1718, 1564, 1300, 1118, 948, 817, 522 cm^{-1} .

6-Bromo-4-hidroxi-2*H*-cromen-2-ona (**3c**)^{117a}: o produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 90% (1,3g, 5,4 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 12,95 (s, 1H), 7,89 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,79 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 5,71 (s, 1H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 164,51, 161,41, 152,55, 135,14,

125,33, 118,82, 117,82, 115,69, 91,71. **IV** (ν_{\max} , filme): 3483, 3120, 3080, 2358, 2341, 1716, 1604, 1558, 1458, 1300, 1265, 1110, 948, 815, 486 cm^{-1} .

7-Etoxi-4-hidroxi-2*H*-cromen-2-ona (**3d**)¹⁸⁷: o produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 67% (0,83g, 4,0 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 12,39 (sl, 1H), 7,69 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 6,90 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 5,44 (s, 1H), 4,12 (q, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,34 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 166,15, 162,41, 162,23, 155,44, 124,36, 112,15, 108,86, 100,91, 88,44, 63,98, 14,43. **IV** (ν_{\max} , filme): 3477, 3130, 2980, 2357, 2339, 1716, 1616, 1519, 1319, 1246, 1170, 1039, 821, 468 cm^{-1} .

7-Metoxi-4-hidroxi-2*H*-cromen-2-ona (**3e**)^{117b}: o produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 75% (0,86g, 4,5 mmol). **RMN ¹H** (400M Hz, DMSO) δ : 12,51 (sl, 1H), 7,31 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,23-7,19 (m, 2H), 5,60 (s, 1H), 3,81 (s, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 165,35, 162,03, 155,29, 147,86, 120,38, 117,64, 116,20, 105,00, 91,24, 55,65. **IV** (ν_{\max} , filme): 3464, 3091, 2956, 2835, 2544, 1699, 1612, 1546, 1481, 1276, 1238, 1039, 815, 549 cm^{-1} .

5.3 – Síntese das piranocumarinas 4a-e por metodologia convencional

Em um vial foram adicionados o catalisador **5a** (20 mol%, 33,4 mg), etanol: $\text{NaCl}_{(\text{sat})}$ (2:1, 0,45 mL) e os aldeídos α,β -insaturados (0,39 mmol, 1,3 equiv.), conforme a Tabela 3.5. Em seguida, adicionou-se a 4-hidroxicumarina **3a** (0,30 mmol, 48,6 mg, 1,0 equiv.) e a mistura reacional foi submetida a agitação à -10°C por 16 horas. A reação foi extraída com acetato de etila (3 x 15 mL), as fases orgânicas foram secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado em um rotaevaporador. A purificação foi feita através de coluna cromatográfica, utilizando sílica flash e uma mistura de hexano: acetato de etila 10% como eluente. Não foi possível a separação dos diastereoisômeros por coluna cromatográfica. Sendo assim, todos os compostos foram isolados em mistura de diastereoisômeros. Para a quantificação dos enantiômeros formados, utilizou-se a coluna quiral AD-H e hexano: isopropanol como eluente.

(4*R*)-4-Heptil-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4a**):⁶¹ o produto foi obtido como um óleo amarelado. Cis/trans: 3:1. Rendimento: 80% (76 mg, 0,24 mmol); **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,77 (dd, *J* = 7,9, 1,4 Hz, 1H), 7,48 (ddd, *J* = 9,7, 7,4, 1,5 Hz, 1H), 7,26 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,22 (t, *J* = 7,60, 1H), 5,66 (dd, *J* = 9,4, 2,2 Hz, 1H), 4,27 (sl, 1H), 2,97 – 2,90 (m, 1H), 2,29 (dt, *J* = 13,7, 2,5 Hz, 1H), 1,98 – 1,86 (m, 2H), 1,43 – 1,27 (m, 11H), 0,88 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 163,10, 158,58, 152,62, 131,63, 123,91, 122,77, 116,46, 115,60, 105,01, 94,09, 33,88, 31,93, 31,81, 30,13, 29,64, 29,37, 27,22, 22,74, 14,18. **CG-EM** *m/z* (rel. int. %): 317 (M⁺); 299; 282; 244; 228; 217; 207; 189; 175; 162; 147; 123; 121 (100); 93; 92; 69; 55; 45. **IV** (ν_{max}, filme): 3367, 2958, 2924, 2854, 2364, 2345, 1772, 1781, 1620, 1571, 1406, 1311, 1109, 758 cm⁻¹. **[α]_D** = + 6,53 (c = 7,49, MeOH). Literatura: **[α]_D²⁵** = +2,47 (c = 1,13, CHCl₃). **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, enantiômero minoritário: t_R = 9,3 min; enantiômero majoritário: t_R = 10,1 min. ee: 79%.

(4*R*)-2-Hidroxi-4-nonil-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4b**): o produto foi obtido como um sólido amarelado. Cis/trans: 3,5:1. Rendimento: 55% (57 mg, 0,17 mmol); **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,76 (dd, *J* = 7,9, 1,2 Hz, 1H), 7,45 (ddd, *J* = 9,7, 7,4, 1,4 Hz, 1H), 7,25 (dd, *J* = 12,3, 3,8 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 5,67 (dd, *J* = 9,3, 2,0 Hz, 1H), 4,53 (sl, 1H), 2,96 – 2,91 (m, 1H), 2,29 (dt, *J* = 13,6, 2,3 Hz, 1H), 1,97 – 1,88 (m, 2H), 1,40 – 1,25 (m, 15H), 0,87 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 162,71, 158,19, 152,79, 131,66, 123,91, 122,77, 116,59, 115,62, 105,22, 93,94, 33,90, 32,02, 31,96, 30,27, 30,13, 29,72, 29,45, 27,25, 22,81, 14,25. **CG-EM** *m/z* (rel. int. %): 344 (M⁺); 326; 298; 281; 260; 245; 231; 217; 199; 175; 162; 147; 133; 105; 91; 69; 55; 45. **IV** (ν_{max}, filme): 3417, 2956, 2918, 2850, 2357, 2335, 1666, 1616, 1570, 1496, 1467, 1454, 1400, 1273, 1163, 1107, 962, 761, 462 cm⁻¹. **[α]_D²⁵** = -2,87 (c = 5,82, MeOH). **HRMS (ESI)**: *m/z* calculado para C₂₁H₂₉O₄ [M + 1]⁺ 345,2060, encontrado 345,2048. **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, enantiômero minoritário: t_R = 7,7 min; enantiômero majoritário: t_R = 8,8 min. ee: 71%.

(4*R*)-2-Hidroxi-4-pentil-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4c**): o produto foi obtido como um sólido amarelado. Cis/trans: 3:1. Rendimento: 75% (65 mg, 0,22 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,76 (dd, *J* = 7,8, 1,1 Hz, 1H), 7,47 (ddd, *J* = 9,7, 7,5, 1,6 Hz, 1H), 7,25 (dd, *J* = 12,1, 3,8 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 5,67 (dd, *J* =

9,3, 2,0 Hz, 1H), 4,47 (sl, 1H), 2,94 – 2,91 (m, 1H), 2,29 (dt, $J = 13,7, 2,7$, Hz 1H), 1,97 – 1,88 (m, 2H), 1,43 – 1,19 (m, 7H), 0,88 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 162,77, 158,25, 152,77, 131,66, 123,91, 122,77, 116,58, 115,62, 105,19, 93,96, 33,84, 31,93, 31,86, 30,12, 26,89, 22,76, 14,19. **CG-EM** m/z (rel. int. %): 288 (M^+); 271; 259; 245; 227; 217; 201; 189; 175; 162; 147; 131; 121 (100); 115; 92; 91; 65; 51. **IV** (ν_{max} , filme): 3377, 2960, 2854, 2366, 2345, 1762, 1620, 1571, 1492, 1107, 758, 464 cm^{-1} . **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_7\text{H}_{21}\text{O}_4$ [$\text{M} + 1$] $^+$ 289,14322, encontrado 289,14344. $[\alpha]_D^{25} = -3,59$ ($c = 5,80$, MeOH). **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min^{-1} , enantiômero minoritário: $t_R = 10,1$ min; enantiômero majoritário: $t_R = 11,4$ min. ee: 70%.

(4*R*)-(E)-(4-Hex-3-en-1-il)-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4d**): o produto foi obtido como um óleo amarelado. Cis/trans: 2,4:1. Rendimento: 41% (37 mg, 0,12 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,78 (dd, $J = 7,9, 1,3$ Hz, 1H), 7,49 (ddd, $J = 8,7, 7,3, 1,6$ Hz, 1H), 7,28 (dd, $J = 8,4, 1,1$ Hz, 1H), 7,23 (dd, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1H), 5,65 (dd, $J = 9,3, 2,4$ Hz, 1H), 5,45 – 5,33 (m, 2H), 4,03 (sl, 1H), 3,00 – 2,94 (m, 1H), 2,30 (dt, $J = 13,8, 2,6$ Hz, 1H), 2,26 – 2,18 (m, 2H), 2,12 – 1,98 (m, 4H), 1,97 – 1,86 (m, 1H), 1,46 – 1,30 (m, 1H), 0,97 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 162,51, 158,16, 152,67, 132,54, 131,57, 127,94, 123,79, 122,64, 116,47, 115,45, 104,87, 93,77, 33,54, 31,75, 29,63, 24,66, 20,64, 14,32. **CG-EM** m/z (rel. int. %): 300 (M^+); 281; 267; 256; 230; 217; 207; 189; 175; 162; 147; 123; 121 (100); 92; 65; 55; 45. **IV** (ν_{max} , filme): 3367, 3005, 2964, 2931. 2872, 2364, 2345, 1716, 1622, 1571, 1492, 1406, 1165, 758, 462 cm^{-1} . $[\alpha]_D^{25} = -2,80$ ($c = 3,36$, MeOH). **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_4$ [$\text{M} + 1$] $^+$ 301,14301, encontrado 301,14344. **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 95/5, vazão = 1,0 mL min^{-1} , enantiômero minoritário: $t_R = 25,8$ min; enantiômero majoritário: $t_R = 27,3$ min. ee: 66%.

(4*R*)-4-Etil-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4e**):⁶¹ o produto foi obtido como um sólido amarelado. Cis/trans: 3,8:1. Rendimento: 99% (73 mg, 0,29 mmol); **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,76 (dd, $J = 7,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,46 (ddd, $J = 8,8, 7,3, 1,6$ Hz, 1H), 7,25 – 7,18 (m, 2H), 5,65 (dd, $J = 9,3, 2,3$ Hz, 1H), 4,69 (sl, 1H), 2,87 – 2,81 (m, 2 Hz, 1H), 2,29 (dt, $J = 13,8, 2,7$ Hz, 1H), 2,15 – 1,95 (m, 1H), 1,96 – 1,84 (m, 1H), 1,41 – 1,30 (m, 1H), 1,02 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 162,83, 158,35, 152,78, 131,71, 123,93, 122,80, 116,58, 115,60, 105,00, 93,94, 31,59, 31,38, 26,63, 11,68. **CG-EM** m/z (rel. int. %): 246 (M^+); 229; 217; 204; 189; 176 (100);

162; 157; 147; 131; 121; 107; 103; 92; 77; 65; 55; 50. **IV** (ν_{\max} , filme): 3358, 3066, 2962, 2872, 2370, 2345, 1670, 1622, 1570, 1492, 1165, 1103, 900, 761, 468 cm^{-1} . $[\alpha]_D^{25} = -10,10$ ($c = 5,46$, MeOH). Literatura: $[\alpha]_D = -5,49$ ($c = 0,24$, CHCl_3). **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min^{-1} , enantiômero minoritário: $t_R = 11,0$ min; enantiômero majoritário: $t_R = 12,7$ min. ee: 73%.

5.4 – Síntese das piranocumarinas 4f-i via micro-ondas

Em um tubo de micro-ondas foram adicionados o catalisador **5a** (20 mol%, 33,4 mg), uma mistura etanol: $\text{NaCl}_{(\text{sat})}$ (2:1, 0,45 mL), os aldeídos (0,39 mmol, 1,3 equiv.) e as 4-hidroxycumarinas substituídas (0,30 mmol, 1,0 equiv.) (vide Tabela 3.6). Com auxílio de um sistema de resfriamento acoplado ao reator de micro-ondas, a temperatura foi mantida à -10°C durante 30 minutos. Após o período reacional, a extração, purificação, e determinação dos excessos enantioméricos dos compostos foram realizadas pelo mesmo procedimento dos compostos sintetizados de modo convencional. Não foi possível a separação dos diastereoisômeros por coluna cromatográfica. Sendo assim, todos os compostos foram isolados em mistura de diastereoisômeros. A partir dessa metodologia, os compostos **4a**, **4d** e **4e**, foram obtidos com rendimentos de 80, 52 e 95% e excessos enantioméricos de 72, 75 e 61%, respectivamente. Os espectros de **RMN ^1H** e **RMN ^{13}C** corroboraram com os obtidos via metodologia convencional.

(*4R*)-9-Cloro-4-etil-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4f**): o produto foi obtido como um sólido branco. Cis/trans: 3.4:1. Rendimento: 69% (58 mg, 0,21 mmol); **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,71 (dd, $J = 5,6, 2,4$ Hz, 1H), 7,41 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1H), 7,19 (dd, $J = 8,8, 3,9$ Hz, 1H), 5,65 (dd, $J = 9,2, 2,3$ Hz, 1H), 4,48 (sl, 1H), 2,87 – 2,82 (m, 1H), 2,29 (dt, $J = 13,9, 2,6$ Hz, 1H), 2,11 – 1,97 (m, 1H), 1,95 – 1,87 (m, 1H), 1,41 – 1,30 (m, 1H), 1,03 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 162,35, 157,40, 151,08, 131,66, 129,50, 122,44, 118,00, 116,76, 105,84, 94,21, 31,58, 31,28, 26,56, 11,66. **IV** (ν_{\max} , filme): 3412, 3070, 2964, 2931, 2872, 1687, 1622, 1571, 1487, 1300, 1263, 1182, 1109, 1043, 948, 823, 773, 736, 561 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 280 (M^+); 262; 251; 237; 223 (100); 221; 196; 181; 157; 155; 141; 123; 115; 99; 82; 69; 63; 51 cm^{-1} . $[\alpha]_D^{25} = -3,73$ ($c = 5,36$, MeOH) **HRMS (ESI)**: m/z calculado

para $C_{14}H_{13}ClO_4$ $[M + Na]^+$ 303,0400, encontrado 303,0408. **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, enantiômero minoritário: t_R = 9,5 min; enantiômero majoritário: t_R = 11,4 min. ee: 71%.

(4*R*)-9-Bromo-4-etil-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4g**): o produto foi obtido com um sólido branco. Cis/trans: 3.5:1. Rendimento: 73% (71 mg, 0,22 mmol); **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,88 (dd, J = 5,5, 2,2 Hz, 1H), 7,56 (dd, J = 8,8, 2,2 Hz, 1H), 7,15 (dd, J = 8,8, 3,5 Hz, 1H), 5,65 (dd, J = 9,0, 1,6 Hz, 1H), 4,12 (sl, 1H), 2,88 – 2,83 (m, 1H), 2,29 (dt, J = 13,9, 2,5 Hz, 1H), 2,13 – 1,96 (m, 1H), 1,95 – 1,85 (m, 1H), 1,42 – 1,30 (m, 1H), 1,03 (t, J = 7,5 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ : 162,25, 157,26, 151,55, 134,49, 125,48, 118,31, 117,17, 116,80, 105,86, 94,19, 31,57, 31,30, 26,57, 11,66. **IV** (ν_{max} , filme): 3417, 2956, 2929, 2351, 2330, 1687, 1620, 1566, 1483, 1105, 1045, 821, 775, 543 cm⁻¹. **CG-MS** m/z (rel. int. %): 326 (M⁺); 307; 295; 281; 267; 255; 240; 209; 201; 188; 172; 143; 123 (100); 97; 82; 69; 63; 45. $[\alpha]_D^{25}$ = +2.93 (c = 7,22, MeOH). **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $C_{14}H_{14}BrO_4$ $[M + 1]^+$ 325,0069 e 327,0051, encontrados 325,0056 e 327,0043. **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, enantiômero minoritário: t_R = 10,2 min; enantiômero majoritário: t_R = 12,6 min. ee: 71%.

(4*R*)-8-Etoxi-4-etil-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4h**): o produto foi obtido como um sólido amarelado. Cis/trans: 3.8:1. Rendimento: 78% (68 mg, 0,23 mmol); **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,64 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 5,61 (dd, J = 9,3, 2,3 Hz, 1H), 4,38 (sl, 1H), 4,04 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 2,84 – 2,79 (m, 1H), 2,27 (dt, J = 13,7, 2,5 Hz, 1H), 2,10 – 1,96 (m, 1H), 1,91 – 1,94 (m, 1H), 1,43 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,37 – 1,25 (m, 1H), 1,01 (t, J = 7,4 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ : 163,33, 162,10, 158,89, 154,49, 123,82, 123,78, 112,61, 108,69, 100,80, 93,88, 64,18, 31,50, 26,67, 14,69, 11,68. **IV** (ν_{max} , filme): 3385, 2966, 2873, 2370, 2345, 1616, 1510, 1411, 1168, 1035, 945, 823, 769 cm⁻¹. **CG-MS** m/z (rel. int. %): 290 (M⁺); 281; 261; 233; 218; 207 (100); 191; 165; 147; 137; 123; 108; 96; 81; 73; 55; 45. **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $C_{16}H_{19}O_5$ $[M + 1]^+$ 291,12234, encontrado 291,12270. $[\alpha]_D^{25}$ = -9,74 (c = 6,08, MeOH). **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, enantiômero minoritário: t_R = 11,4 min; enantiômero majoritário: t_R = 15,1 min. ee: 67%.

(4*R*)-8-Metoxi-4-etil-2-hidroxi-3,4-dihidropirano[3,2-*c*]-cromen-5(2*H*)-ona (**4i**): o produto foi obtido como um sólido amarelado. *Cis/trans*: 3,1:1. Rendimento: 83% (70 mg, 0,25 mmol); **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,20 – 7,17 (m, 2H), 7,05 (dd, *J* = 9,1, 3,0 Hz, 1H), 5,64 (dd, *J* = 9,3, 2,2 Hz, 1H), 4,29 (sl, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,87 – 2,82 (m, 1H), 2,29 (dt, *J* = 13,8, 2,6 Hz, 1H), 2,15 – 1,99 (m, 1H), 1,93 – 1,86 (m, 1H), 1,40 – 1,28 (m, 1H), 1,02 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 162,97, 158,12, 155,94, 147,25, 119,84, 119,66, 117,70, 115,92, 104,72, 94,00, 56,01, 31,66, 31,43, 26,63, 11,69. **IV** (*U*_{max}, filme): 3412, 3070, 2962, 2935, 2870, 2339, 2320, 1662, 1579, 1494, 1240, 1199, 1045, 962, 920, 775, 765 cm⁻¹. **CG-MS** *m/z* (rel. int. %): 276 (M⁺); 265; 248; 247; 233; 219 (100); 207; 192; 177; 161; 151; 135; 123; 107; 95; 79; 73; 55; 51. [α]_D²⁵ = -9,19 (*c* = 6,79, MeOH). **HRMS (ESI)**: *m/z* calculado para C₁₅H₁₇O₅ [M + H]⁺ 277,1070, encontrado 277,1077. **HPLC**: coluna AD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, enantiômero minoritário: *t*_R = 15,4 min; enantiômero majoritário: *t*_R = 17,8 min. ee: 87%.

5.5 – Síntese das piperidinocumarinas 6a-d

Em um tubo de micro-ondas de 10 mL, foram adicionados os compostos 1,3-dicarbonílicos **4** (0,25 mmol, 1,0 equiv.), o organocatalisador **5e** (10 mol%), os aldeídos α,β -insaturados (0,33 mmol, 1,3 equiv.) e o diclorometano (0,5 mL) (vide tabela 3.9). A mistura reacional foi agitada por 48 horas, à 10 °C. Em seguida TFE (0,5 mL), as aminas (0,33 mmol, 1,3 equiv.) e as isonitrilas (0,33 mmol, 1,3 equiv.) foram adicionados à mistura reacional, e o sistema introduzido em um reator de micro-ondas. Trietilamina (0,33 mmol, 1,3 equiv.) foi adicionada no caso das reações com aminas derivadas de peptídeos protegidos. A reação se processou de 10 a 30 minutos à 70 °C. A mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3 x 15 mL) e a purificação foi feita através de coluna cromatográfica utilizando sílica flash e uma mistura hexano: acetato de etila (9:1) como eluente.

(4*R*)-1-benzil-*N*-ciclohexil-4-heptil-5-oxo-2,3,4,5-tetraidro-1*H*-chromeno[4,3-*p*]piridina-2-carboxamida (**6a**): O produto foi obtido com um sólido amarelo. Rendimento (mistura de diastereoisômeros *cis/trans*= 95:5): 59% (76 mg, 0,15 mmol). **HRMS (ESI)**: *m/z* calculado para C₃₃H₄₃O₃N₂ [M+H]⁺ 515,32776, encontrado 515,32682. *cis*: Rendimento: 45% (35 mg), **RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ: 7,80 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,51 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,40-7,33 (m, 4H), 7,32 – 7,26 (m, 3H), 6,58 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H),

4,68 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 4,33 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 3,73 – 3,68 (m, 2H), 2,76 – 2,73 (m, 1H), 2,61 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 1,88 – 1,86 (m, 1H), 1,77 – 1,72 (m, 1H), 1,68 – 1,66 (m, 1H), 1,61 – 0,89 (m, 20H), 0,86 (t, $J = 6,2$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ : 169,74, 161,26, 152,83, 150,70, 136,08, 130,88, 129,16, 128,35, 127,48, 124,09, 122,89, 117,94, 116,83, 116,24, 59,63, 58,04, 47,67, 32,68, 32,59, 32,22, 31,94, 30,72, 29,43, 29,28, 27,07, 25,37, 24,38, 24,10, 22,71, 20,34, 14,12. $[\alpha]_D^{20} = 126,9$ ($c = 5,77$, CH_3COCH_3). **HPLC**: coluna OD-H, hexano/2-propanol = 98/2, vazão = 0,6 mL min^{-1} , enantiômero majoritário: $t_R = 42,9$ min; enantiômero minoritário: $t_R = 61,7$ min. rd: 67:33, ee: 83%.

trans: Rendimento: 17% (13 mg) **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,53 (ddd, $J = 9,6, 7,2, 0,6$ Hz, 1H), 7,41 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,37 – 7,32 (m, $J = 2\text{H}$), 7,31 – 7,30 (m, 3H), 7,05 (dd, $J = 6,4, 2,8$ Hz, 2H), 6,44 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,92 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 4,28 (d, $J = 14,7$ Hz, 1H), 3,85 – 3,79 (m, 1H), 3,73 (dd, $J = 10,4, 5,1$ Hz, 1H), 2,86 – 2,82 (m, 1H), 2,17 – 2,12 (m, 1H), 1,98 (dd, $J = 12,2, 3,5$ Hz, 1H), 1,89 – 1,84 (m, 1H), 1,80 (dd, $J = 11,9, 2,9$ Hz, 1H), 1,71 – 1,68 (m, 1H), 1,60 – 1,01 (m, 27H), 0,88 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ : 170,59, 161,38, 153,38, 151,72, 134,57, 130,83, 129,13, 128,82, 128,63, 128,57, 127,97, 126,96, 123,71, 123,59, 118,11, 116,58, 116,46, 57,53, 57,37, 47,72, 33,15, 32,85, 32,39, 31,90, 30,07, 29,85, 29,55, 29,12, 26,84, 25,46, 24,60, 24,43, 22,65, 14,11. $[\alpha]_D^{20} = -64,1$ ($c = 3,92$, CH_3COCH_3). **HPLC**: coluna OD-H, hexano/2-propanol = 98/2, vazão = 0,6 mL min^{-1} , enantiômero majoritário: $t_R = 40,0$ min; enantiômero minoritário: $t_R = 68,9$ min. ee: 81%

(4*R*)-*N*-benzil-1-butil-4-etil-5-oxo-2,3,4,5-tetraidro-1*H*-chromeno[4,3-*b*]piridina-2-carboxamida (**6b**): O produto foi obtido como um sólido amarelo. Rendimento 59% (62 mg, 0,15 mmol), **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,54 (dd, $J = 8,0, 1,0$ Hz, 1H), 7,49 (dd, $J = 8,2, 1,3$ Hz, 1H), 7,45 (dd, $J = 8,3, 1,3$ Hz, 1H), 7,35 (dd, $J = 8,2, 0,9$ Hz, 1H), 7,32 (dd, $J = 8,2, 0,9$ Hz, 1H), 7,25 – 7,18 (m, 5H), 7,14 (dd, $J = 7,5, 1,6$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 6,5, 2,9$ Hz, 2H), 6,93 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 6,81 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,50 (dd, $J = 15,0/6,5$ Hz, 1H), 4,41 (dd, $J = 15,2, 5,7$ Hz, 1H), 4,22 (dd, $J = 15,0, 5,3$ Hz, 1H), 3,93–3,89 (m, 1H), 3,87 (dd, $J = 6,0, 2,0$ Hz, 1H), 3,53 – 3,46 (m, 1H), 3,37 – 3,20 (m, 1H), 3,00 – 2,89 (m, 1H), 2,85 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 2,73–2,68 (m, 1H), 2,38 – 2,32 (m, 1H), 2,09 – 1,99 (m, 1H), 1,89 – 1,70 (m, 5H), 1,38 – 1,18 (m, 9H), 1,04 (t, $J = 7,1$ Hz, 4H), 0,94 (t, $J = 7,4$ Hz, 4H), 0,91–0,79 (m, 4H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 171,33,

167,79, 161,37, 151,13, 130,70, 128,63, 127,47, 127,13, 123,73, 123,21, 118,67, 117,80, 116,94, 105,98, 58,61, 56,47, 43,53, 32,39, 31,15, 29,71, 25,65, 19,95, 19,77, 13,79, 11,73. $[\alpha]_D^{25} = 21,40$ ($c = 2,23$, CH_3COCH_3). **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 419,23292, encontrado 419,23285. **HPLC**: coluna OD-H, hexano/2-propanol = 95/5, vazão = $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, diastereoisômero *cis*: enantiômero majoritário: $t_R = 20,0 \text{ min}$; enantiômero minoritário: $t_R = 24,0 \text{ min}$. rd: 73:27; ee: 89%.

((2S)-Metil-((2R,4R)-2-(*terc*-butilcarbamoil)-9-cloro-4-etil-5-oxo-3,4-diidro-2H-cromeno[4,3-b]piridin-1(5H)-il)-3-fenilpropanoil)-L-valinato (**6c**): O produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 58% (90 mg, 0,14 mmol), **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,48 (dd, $J = 8,9, 2,1 \text{ Hz}$, 1H), 7,41 – 7,37 (m, 3H), 7,33 (dd, $J = 7,9, 4,8 \text{ Hz}$, 4H), 6,16 (s, 1H), 5,42 (d, $J = 6,6 \text{ Hz}$, 1H), 4,49 (d, $J = 4,7 \text{ Hz}$, 1H), 4,41 (t, $J = 7,4 \text{ Hz}$, 1H), 4,34 (dd, $J = 8,5, 5,0 \text{ Hz}$, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,40 (dd, $J = 14,3, 8,0 \text{ Hz}$, 1H), 3,25 (dd, $J = 14,4, 6,8 \text{ Hz}$, 1H), 2,75 (d, $J = 14,7 \text{ Hz}$, 1H), 2,61–2,50 (m, 1H), 2,00 – 1,90 (m, 1H), 1,83 – 1,64 (m, 3H), 1,20 (s, 9H), 1,01 (d, $J = 5,8 \text{ Hz}$, 3H), 0,71 (d, $J = 6,8 \text{ Hz}$, 3H), 0,66 (d, $J = 6,9 \text{ Hz}$, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 171,75, 169,63, 167,77, 166,17, 151,03, 135,71, 131,11, 129,84, 129,52, 129,32, 127,52, 122,44, 119,68, 66,76, 57,44, 52,29, 51,00, 35,97, 32,32, 30,45, 28,20, 25,92, 19,94, 18,41, 17,73, 11,63. $[\alpha]_D^{25} = 17,91$ ($c = 1,15$, CH_3COCH_3). **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_6\text{Cl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 624,28349, encontrado 624,28479. **HPLC**: coluna OD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, diastereoisômero *cis*: enantiômero majoritário: $t_R = 9,0 \text{ min}$; enantiômero minoritário: $t_R = 17,5 \text{ min}$. rd: 98:2. ee: 96%.

(2S)-Metil-((2R,4R)-9-cloro-4-etil-2-((2-metoxi-2-oxoetil)carbamoil)-5-oxo-3,4-diidro-2H-cromeno[4,3-b]piridin-1(5H)-il)propanoato (**6d**): O produto foi obtido como um sólido amarelado. Rendimento 61% (71 mg, 0,15 mmol), **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,53 (d, $J = 2,3 \text{ Hz}$, 1H), 7,48 (dd, $J = 8,8, 2,3 \text{ Hz}$, 1H), 7,34 (d, $J = 8,8 \text{ Hz}$, 1H), 7,06 – 7,03 (m, 1H), 4,69 (q, $J = 7,1 \text{ Hz}$, 1H), 4,19 (dd, $J = 18,5, 6,1 \text{ Hz}$, 1H), 4,02 (dd, $J = 6,3, 1,6 \text{ Hz}$, 1H), 3,78 (d, $J = 3,8 \text{ Hz}$, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 2,78 (d, $J = 14,1 \text{ Hz}$, 1H), 2,76 – 2,69 (m, 1H), 1,71 (d, $J = 7,1 \text{ Hz}$, 3H), 1,65 – 1,55 (m, 1H), 1,47 – 1,29 (m, 2H), 1,01 (t, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3H), 0,83 (m, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 170,99, 170,34, 169,66, 160,79, 151,03, 148,30, 130,66, 129,32, 122,67, 119,46, 117,27, 115,57, 59,70, 53,73, 52,41, 52,26, 41,35, 32,02, 26,10, 20,14, 15,25. $[\alpha]_D^{25} = -11,80$ ($c = 3,13$, CH_3COCH_3). **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7\text{Cl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

465,14231, encontrado 465,14191. **HPLC**: coluna OD-H, hexano/2-propanol = 90/10, vazão = 1,0 mL min⁻¹, diastereoisômero *cis*: enantiômero majoritário: tR = 23,3 min; enantiômero minoritário: tR = 34,7 min. rd: 95:5, ee: 88%

5.6 – Síntese das 2-formil aziridinas (**11a-e**)

Em um vial equipado com agitação magnética, adicionou-se o organocatalisador **13** (20 mol%, 26,0 mg) em AcOEt (2,0 mL) seguido do aldeído α,β -insaturado (0,48 mmol, 1,2 equiv.), NaOAc (1,2 mmol, 3,0 equiv, 98 mg) e TsONHBoc (0,4 mmol, 1,0 equiv, 114 mg) (vide tabela 3.13 e 3.14). A mistura reacional foi agitada a temperatura ambiente ou a -20°C, a depender do substrato, por 40 minutos. A reação foi então extraída com acetato de etila (3 x 15 mL), as fases orgânicas foram secas com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob baixa pressão. A purificação foi feita através de coluna cromatográfica utilizando sílica flash e uma mistura de hexano: acetato de etila. Os produtos foram obtidos como óleos incolores.

Para a determinação dos excessos enantioméricos, os produtos **11a-b** foram derivatizados aos correspondentes ésteres e os compostos **11c-e** aos seus álcoois análogos. Em todos os casos, os brutos reacionais foram submetidos à reação de redução com NaBH₄ (0,8 mmol, 2 equiv., 30 mg) em MeOH (2,0 mL) por 40 minutos. A mistura reacional foi extraída com acetato de etila (2 x 20 mL) e os produtos purificados por coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 20%-30%. Em seguida, os álcoois **11aa** e **11bb** (0,25 mmol) foram submetidos à reação com cloreto de benzoila (1,3 equiv.), DMAP (0,5 equiv.) e Et₃N (4,75 equiv.) em diclorometano (18 mL) por 2h, à temperatura ambiente. A reação foi extraída com diclorometano e lavada com solução saturada de NH₄Cl (2 x 15 mL). Os produtos **11ab** e **11bcq** foram purificados através de coluna cromatográfica utilizando hexano: AcOEt (5%).

(2*S*,3*R*)-2-Formil-3-etilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11a**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 97:3. Rendimento: 66% (52,6 mg, 0,26 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 9,09 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 2,92 (dd, *J* = 5,2, 2,7 Hz, 1H), 2,79 (td, *J* = 6,0, 2,6 Hz, 1H), 1,73 – 1,64 (m, 1H), 1,59 – 1,50 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,05 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 195,86, 158,91, 82,56, 46,89, 44,94, 28,00, 24,32, 10,89.

(2*S*,3*R*)-2-((benzoiloxi)metil)-3-etilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11ab**): **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,06 – 8,04 (m, 1H), 8,04 – 8,03 (m, 1H), 7,56 (tt, *J* = 7,4, 1,3 Hz, 1H), 7,44 (tt, *J* = 7,8, 1,3 Hz, 2H), 4,43 (d, *J* = 4,9 Hz, 2H), 2,62 (td, *J* = 4,9, 3,3 Hz, 1H), 2,51 – 2,47 (m, 1H), 1,78 – 1,68 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,37 (dd, *J* = 14,1, 7,2 Hz, 1H), 1,07 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 166,29, 160,44, 133,32, 129,90, 128,55, 81,43, 63,76, 42,88, 40,66, 28,12, 27,99, 24,21, 11,28. O excesso enantiomérico foi determinado por HPLC utilizando coluna quiral OD-H (*n*-hexano/*i*PrOH 99:1, λ = 230 nm): 1,0 mL/min. t_R (majoritário) = 7,6 min t_R (minoritário) = 8,6 min. ee = 98%

(2*S*,3*R*)-2-Formil-3-pentilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11b**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 97:3. Rendimento: 67% (64,6 mg, 0,27 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,06 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 2,88 (dd, *J* = 5,2, 2,7 Hz, 1H), 2,80 – 2,76 (m, 1H), 1,63 – 1,45 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,36 – 1,24 (m, 4H), 0,87 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 195,71, 158,76, 82,40, 47,08, 43,64, 31,22, 30,87, 27,86, 26,41, 22,46, 13,93.

(2*S*,3*R*)- 2-((benzoiloxi)metil)-3-pentilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11bc**): **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,05 (dd, *J* = 8,4, 1,3 Hz, 2H), 7,56 (tt, *J* = 7,4, 1,4 Hz, 1H), 7,48 – 7,40 (tt, *J* 8,0, 1,5 Hz, 2H), 4,45 (dd, *J* = 11,7, 4,9 Hz, 1H), 4,40 (dd, *J* = 11,6, 4,3 Hz, 1H), 2,61 (td, *J* = 5,0, 3,3 Hz, 1H), 2,50 (ddd, *J* = 7,0, 5,7, 3,2 Hz, 1H), 1,77-1,70 (m, 1H), 1,57 – 1,43 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,37 – 1,23 (m, 5H), 0,87 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 166,31, 160,45, 133,33, 129,90, 128,55, 81,45, 63,87, 41,77, 40,93, 31,56, 30,87, 28,13, 26,82, 22,70, 14,10. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna Trefoil CEL2 (90% MeOH, gradiente, 1,2 ml/min, 2000 psi, 35 °C), tr (majoritário) = 5,3 min. ee= 99%.

(2*S*,3*S*)- 2-((benziloxi)metil)-3-formilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11c**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 8:2. Rendimento: 74% (87,4 mg, 0,30 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,16 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,36 – 7,26 (m, 5H), 4,55 (d, *J* = 3,7 Hz, 2H), 3,74 (dd, *J* = 11,2, 4,1 Hz, 1H), 3,70 (dd, *J* = 11,3, 3,9 Hz, 1H) 3,21 (dd, *J* = 4,9, 2,6 Hz, 1H), 3,02 (dd, *J* = 6,5, 3,7 Hz, 1H), 1,44 (s, 9H). **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 195,96, 158,29, 137,46, 128,57, 128,00, 127,78, 82,62, 73,14, 66,71, 43,85, 41,82, 27,94.

(2*S*,3*S*)- 2-((benziloxi)metil)-3-(hidróximetil)aziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11cc**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 8:2.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,30 – 7,17 (m, 5H), 4,49 (s, 2H), 3,91 (dd, *J* = 12,5, 2,9 Hz, 1H), 3,57 (ddd, *J* = 22,7, 11,0, 4,4 Hz, 2H), 3,45 (dd, *J* = 12,5, 6,3 Hz, 1H), 2,63 (dt, *J* = 6,2, 3,1 Hz, 1H), 2,56 (dd, *J* = 7,7, 4,3 Hz, 1H), 1,38 (s, 9H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 160,97, 137,88, 128,49, 127,83, 127,72, 81,86, 72,95, 68,24, 61,87, 41,46, 39,24, 28,03. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² coluna Trefoil AMY1 (40% MeCN, gradiente, 2,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C). *tr* (majoritário) = 3,3 min, *tr* (minoritário) = 3,5 min, ee = 93%.

(2*S*,3*R*)- 2-formil-3-fenetilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11d**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 97:3. Rendimento: 55% (151 mg, 0,22 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, Acetona) δ: 9,12 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 7,29– 7,25 (m, 4H), 7,22 – 7,18 (m, 1H), 2,96 – 2,93 (m, 1H), 2,87 – 2,79 (m, 2H), 2,79 (s, 1H), 2,05 (dt, *J* = 4,4, 2,2 Hz, 1H), 1,96 – 1,81 (m, 2H), 1,45 (s, 9H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 195,50, 158,82, 140,51, 128,73, 128,58, 126,46, 82,69, 47,12, 43,28, 33,11, 32,95, 28,02.

(2*S*,3*R*)- 2-(hidróximetil)-3-fenetilaziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11dd**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 9:1. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,31 – 7,27 (m, 2H), 7,22 – 7,19 (m, 3H), 3,90 (dd, *J* = 12,5, 2,6 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 12,5, 6,8 Hz, 1H), 2,87 (ddd, *J* = 14,0, 8,6, 5,6, 1H), 2,77 – 2,70 (m, 1H), 2,37 (dtd, *J* = 3,2, 6,1, 9,3, 2H), 1,90 (ddt, *J* = 11,0, 8,5, 6,1, 1H), 1,76 – 1,67 (m, 1H), 1,49 (s, 9H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 161,61, 141,18, 128,59, 128,56, 126,24, 81,89, 62,65, 44,65, 40,46, 33,31, 33,08, 28,11. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² coluna Trefoil CEL1 (40% MeCN, gradiente, 1,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C). *tr* (majoritário) = 4,2 min ee= 99%.

(2*S*,3*R*)- 2-formil-3-(2-nitrofenil)aziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11e**). Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 9:1. Rendimento: 72% (84,2 mg, 0,29 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,54 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H), 8,18 (dd, *J* = 8,2, 1,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 7,8, 1,5 Hz, 1H), 7,68 (td, *J* = 7,6, 1,0 Hz, 1H), 7,53 (ddd, *J* = 8,6, 7,1, 1,6, 1H), 4,37 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,18 (dd, *J* = 3,4, 2,6 Hz, 1H), 1,51 (s, 9H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 193,33, 158,35, 134,47, 131,48, 129,61, 129,37, 125,18, 83,43, 48,78, 44,44, 28,03.

(2*S*,3*R*)- 2-(hidróximetil)-3-(2-nitrofenil)aziridina-1-carboxilato de *tert*-butila (**11ee**): Purificação através de coluna cromatográfica com hexano: acetato de etila 8:2. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,10 (dd, *J* = 8,2, 1,2 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 7,8, 1,5 Hz, 1H),

7,63 (td, $J = 7,5, 1,2$ Hz, 1H), 7,45 (ddd, $J = 8,6, 7,2, 1,6$ Hz, 1H), 4,23 (ddd, $J = 12,6, 8,8, 2,6$, 1H), 3,94 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 3,82 (ddd, $J = 12,7, 6,2, 3,4$, 1H), 2,84 (dd, $J = 8,8, 4,2$ Hz, 1H), 2,62 (dt, $J = 6,2, 3,0$ Hz, 1H), 1,49 (s, 9H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 161,14, 148,00, 134,37, 133,30, 129,39, 128,76, 124,89, 82,64, 62,16, 47,58, 40,69, 28,11. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna quiral Trefoil AMY1 [40% *i*PrOH, gradiente, 2,0 mL/min, 2000 psi, 35 °C]: t_R (majoritário) = 4,9 min ee =99%.

5.7 – Síntese dos dímeros de amino aldeídos (12a-b)

Em um balão de fundo redondo de duas vias provido de agitação magnética, adicionou-se as 2-formil aziridinas (0,25 mmol, 1,0 equiv) e o TBAF (0,25 mmol, 1M em THF, 0,25 mL) em Me-THF (1,25 mL). A mistura reacional foi agitada por 1 h em refluxo. Em seguida, a reação foi extraída com acetato de etila (3 X 30 mL) e lavada com $\text{NaHCO}_{3(\text{sat})}$. Os produtos foram obtidos como óleos incolores.

(2*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-Etil-2-((2*S*,3*R*)-3-etilaziridin-2-il)-3-oxa-1-azabicyclo[3,1,0]hexan-4-ol (**12a**): Rendimento: 65% (48,6 mg, 0,24 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 5,24 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 2,42 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 2,15 (dd, $J = 3,5, 1,1$ Hz, 1H), 1,96 (td, $J = 6,1, 3,6$ Hz, 1H), 1,56 – 1,40 (m, 5H), 0,98 (dt, $J = 8,6, 7,4$ Hz, 6H), **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 96,46, 94,58, 50,31, 40,66, 38,35, 35,57, 26,54, 24,42, 11,50, 11,32.

(2*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-Pentil-2-((2*S*,3*R*)-3-pentilaziridin-2-il)-3-oxa-1-azabicyclo[3,1,0]hexan-4-ol (**12b**): Rendimento: 42% (44,2 mg, 0,16 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 5,24 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 2,41 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 2,13 (dd, $J = 3,4, 0,9$ Hz, 1H), 1,98 – 1,94 (m, 1H), 1,49 – 1,22 (m, 24H), 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 6H), **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 96,47, 94,51, 50,49, 39,32, 38,70, 34,27, 33,68, 31,69, 31,58, 31,21, 27,27, 26,96, 22,72, 22,69, 14,15, 14,09.

5.8 - Síntese das hidantoínas reduzidas (15a-g)

Em um balão de fundo redondo de duas vias, provido de agitação magnética, adicionou-se as 2-formil aziridinas (1,0 equiv., 0,2M) e TBAF (1,0 equiv., 1M em THF) em Me-THF (vide tabela 3.15). A mistura reacional foi agitada por 1 h à

90 °C. Em seguida, o bruto reacional foi extraído com acetato de etila (3 x 20 mL), lavado com NaHCO_{3(sat)} e utilizado na etapa seguinte, sem posterior purificação. Os dímeros de aziridina aldeídos **12** (1,0 equiv.) foram dissolvidos em uma mistura de HFIP:H₂O 8:2, em um vial equipado com agitação magnética. Em seguida, os isocianatos (1,5 equiv.) foram adicionados e a mistura resultante foi agitada por 1 h, à temperatura ambiente. A reação foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL) e a fase orgânica lavada com água (20 mL), seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob baixa pressão. A purificação foi feita através de coluna cromatográfica utilizando sílica flash e uma mistura de hexano: acetato de etila 6:4 como eluente.

(4*S*,5*S*,6*R*)-4-Hidroxi-6-pentil-3-fenil-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona (**15a**):
Rendimento: 59% (49 mg, 0,19 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 118 °C. **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,54 (t, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,52 (t, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,33 (tt, *J* = 7,4, 1,9 Hz, 2H), 7,19 (tt, *J* = 1,2, 7,4 Hz, 1H), 5,66 (s, 1H), 4,60 (s, 1H), 2,80 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 2,25 – 2,21 (m, 1H), 1,71 – 1,62 (m, 1H), 1,58 – 1,43 (m, 3H), 1,35 – 1,30 (m, 4H), 0,90 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 165,31, 136,66, 129,19, 126,16, 122,75, 83,12, 49,88, 46,18, 31,48, 31,21, 26,28, 22,62, 14,09. **HRMS (ESI)**: *m/z* calculado para C₁₅H₂₀N₂O₂ [(M+H)]⁺: 261,1598, encontrado: 261,1594. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna quiral Trefoil CEL2 [70% *i*PrOH, gradiente, 0,4 mL/min, 2000 psi, 40 °C]: *t_R* (majoritário) = 6,6 min ee = 99%.

(4*S*,5*S*,6*R*)-6-Etil-4-hidroxi-3-fenil-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona (**15b**):
Rendimento: 43% (35 mg, 0,16 mmol). O produto foi obtido com um sólido branco. **Pf**: 108 °C. **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,55 - 7,53 (m, 1H), 7,52 (dd, *J* = 2,0, 1,0 Hz, 1H), 7,36 – 7,31 (m, 2H), 7,19 (tt, *J* = 7,4, 1,1 Hz, 1H), 5,66 (s, 1H), 4,71 (s, 1H), 2,82 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 2,23 (td, *J* = 6,0, 3,6 Hz, 1H), 1,73 – 1,59 (m, 2H), 1,06 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 165,43, 136,67, 129,26, 126,23, 122,72, 83,15, 50,81, 45,73, 24,46, 10,61. **HRMS (ESI)**: *m/z* calculado para C₁₂H₁₄N₂O₂ [(M+H)]⁺: 219,1128, encontrado: 219,1117.

(4*S*,5*S*,6*S*)-6-((Benziloxi)metil)-4-hidroxi-3-fenil-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona (**15c**): Rendimento: 40% (32 mg, 0,1 mmol). O produto foi obtido como um óleo amarelo. **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,50 (dd, *J* = 8,6, 1,1 Hz, 2H), 7,35 – 7,28 (m, 7H), 7,19 (tt, *J* = 7,4, 1,3, Hz, 1H), 5,62 (s, 1H), 4,84 (s, 1H), 4,55 (2 x d, *J* = 26,5, 2,8 Hz, 2H), 3,68 (dd, *J* = 11,2, 4,7 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 11,2, 4,6 Hz, 1H), 2,95 (d, *J* =

3,5 Hz, 1H), 2,45 (dd, $J = 8,2, 4,6$ Hz, 1H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 165,20, 137,62, 136,45, 129,29, 128,66, 128,12, 128,08, 126,38, 122,84, 83,06, 73,59, 68,42, 47,18, 43,55. **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ $[(\text{M}+\text{H})]^+$: 311,1390, encontrado: 311,1389.

(4*S*,5*S*,6*R*)-4-Hidroxi-6-fenetil-3-fenil-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona **(15d)**:
Rendimento: 44% (37 mg, 0,12 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf**: 153 °C. **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,51 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,33 (dd, $J = 11,2, 4,6$ Hz, 2H), 7,29 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,24 – 7,17 (m, 4H), 5,61 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 4,01 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H), 2,91 – 2,76 (m, 2H), 2,76 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H), 2,22 (td, $J = 6,3, 3,5, 1\text{H}$), 2,00 – 1,86 (m, 2H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 165,38, 140,54, 136,64, 129,19, 128,73, 128,62, 126,44, 126,15, 122,61, 83,06, 48,94, 46,27, 32,95, 32,82. **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ $[(\text{M}+\text{H})]^+$: 295,1441, encontrado: 295,1440. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna quiral Trefoil CEL2 [40% MeOH, gradiente, 0,8 mL/min, 2000 psi, 40 °C]: t_{R} (majoritário) = 9,1 min ee =99%.

(4*S*,5*S*,6*R*)-3-Alil-4-hidroxi-6-pentil-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona **(15e)**:
Rendimento: 51% (47 mg, 0,21 mmol). O produto foi obtido como óleo amarelo. **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 5,76 – 5,66 (m, 1H), 5,24 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 5,20-5,17 (m, 2H), 4,58 (s, 1H), 4,00 (ddt, $J = 15,2, 4,9, 1,3$ Hz, 1H), 3,74 (ddt, $J = 15,3, 7,6, 1,2, 1\text{H}$), 2,69 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 2,02 (ddd, $J = 6,4, 5,4, 3,6$ Hz, 1H), 1,61 – 1,39 (m, 5H), 1,33 – 1,36 (m, 3H), 0,89 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 166,89, 132,19, 118,94, 80,89, 49,96, 46,52, 43,05, 31,49, 31,33, 26,23, 22,61, 14,09, **HRMS (ESI)**: m/z calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ $[(\text{M}+\text{H})]^+$: 295,1598, encontrado: 295,1594. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna quiral Trefoil CEL2 [40% *i*PrOH, gradiente, 0,8 mL/min, 2000 psi, 40 °C]: t_{R} (majoritário) = 5,3 min t_{R} (minoritário) = 5,8. ee =98%.

(4*S*,5*S*,6*R*)-3-Benzil-6-etil-4-hidroxi-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona **(15f)**:
Rendimento: 43% (34 mg, 0,15 mmol). O produto foi obtido como um óleo amarelo. Mistura de diastereoisômeros (1:0,5). **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,28 – 7,17 (m, 5H), 4,93 (s, 1H), 4,59 e 4,61 (2 d, $J = 14,9$ e $J = 14,8$ Hz, 1H), 4,12 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 2,60 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 1,85 (td, $J = 6,0, 3,6$ Hz, 1H), 1,55 – 1,45 (m, 3H), 0,92 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 166,93 e 166,51, 136,35 e 135,88, 128,98, 128,89, 128,74, 128,61, 128,51, 128,01, 127,95, 80,36, 79,35, 50,60, 48,43,

46,28, 44,39, 44,04, 43,38, 24,70 e 24,44, 10,67 e 10,54. **HRMS (ESI):** m/z calculado para $C_{13}H_{16}N_2O_2$ $[(M+Na)]^+$: 255,1104, encontrado: 255,1106. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna quiral Trefoil CEL2 [60% MeCN, gradiente, 1,0 mL/min, 2000 psi, 40 °C]: t_R (majoritário) = 5,7 min, t_R (minoritário) = 7,1. ee =90%.

(4*S*,5*S*,6*R*)-4-Hidroxi-3-(4-metoxifenil)-6-pentil-1,3-diazabicyclo[3,1,0]hexan-2-ona (**15g**): Rendimento: 49% (32 mg, 0,11 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf**: 101 °C. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,38 (dt, $J = 9,1, 3,4$ Hz, 2H), 6,87 (dt, $J = 9,1, 3,4$ Hz, 2H), 5,55 (s, 1H), 4,39 (sl, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,78 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 2,23 (td, $J = 5,6, 3,8$ Hz, 1H), 1,72 – 1,28 (m, 8H), 0,90 (t, $J = 6,3$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ : 165,71, 158,14, 129,22, 125,27, 114,50, 83,56, 55,60, 49,81, 46,13, 31,51, 31,28, 26,30, 22,64, 14,10. **HRMS (ESI):** m/z calculado para $C_{16}H_{22}N_2O_3$ $[(M+Na)]^+$: 291,1703, encontrado: 291,1703. O excesso enantiomérico foi determinado por UPC² utilizando coluna quiral Trefoil CEL2 [50% *i*PrOH, gradiente, 0,6 mL/min, 2000 psi, 40 °C]: t_R (majoritário) = 10,1. ee =99%.

5.9 – Síntese das hidantoínas derivadas de aminoácidos naturais (17a-j)

Em um balão de fundo redondo provido de agitação magnética, os aminoácidos (1,5 mmol) foram dissolvidos em água destilada, à 0°C. Adicionou-se então o hidróxido de sódio (2,2 mmol, 0,09 g) e a mistura foi mantida sob banho de gelo por 15 minutos (vide tabela 3.16). Em seguida, os correspondentes isocianatos (1,6 mmol) foram adicionados lentamente e a mistura reacional foi transferida para a geladeira. As reações processaram-se entre 7-10 °C por duas horas. Ao término do período reacional, adicionou-se ácido clorídrico 37% (6,0 mL) e o precipitado formado foi lavado com água destilada (30 mL). Os produtos foram purificados por coluna cromatográfica com sílica flash, tendo como eluente mistura de hexano: acetato de etila 1:1. Todos os produtos foram obtidos como sólidos brancos.

(*S*)-3-(4-Bromofenil)-5-isopropilimidazolidina-2,4-diona (**17a**): Rendimento: 50% (0,22 g, 0,74 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,59 (s, 1H), 7,68 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,13 (dd, $J = 3,5, 1,2$ Hz, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 1H), 1,01 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 0,87 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 172,54, 155,62,

131,74, 131,39, 128,48, 120,48, 61,40, 29,94, 18,47, 15,94. **IV** (ν_{\max} , filme): 3249, 3105, 2964, 2354, 2320, 1776, 1724, 1492, 1417, 1166, 1072, 1010 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 296(M^+), 268, 254, 250, 227, 210, 197 (100), 189, 175, 156, 147, 120, 117, 90, 76, 63, 43, 41. $[\alpha]_D^{25} = -119,19$ (c 4,95, MeOH).

(S)-5-isobutil-3-fenilimidazolidina-2,4-diona (**17b**)⁷²: Rendimento: 63% (0,22 g, 0,95 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO) δ : 8,58 (s, 1H), 7,47 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,37 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 4,23 (dd, $J = 8,2, 4,6$ Hz, 1H), 1,89 – 1,79 (m, 1H), 1,65 – 1,52 (m, 2H), 0,92 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H). **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO) δ : 173,93, 155,82, 132,29, 128,86, 127,86, 126,80, 54,99, 40,74, 24,21, 23,17, 21,61. **IV** (ν_{\max} , filme): 3278, 3112, 2960, 2869, 1776, 1728, 1596, 1494, 1431, 1398, 1189, 1164, 765, 750, 713 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 232(M^+), 217, 204, 189, 176 (100), 162, 147, 132, 119, 104, 91, 90, 77, 64, 55, 43. $[\alpha]_D^{25} = -85,71$ (c 5,01, MeOH).

3-fenilimidazolidina-2,4-diona (**17c**)⁷²: Rendimento: 60% (0,16 g, 0,91 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO) δ : 8,28 (s, 1H), 7,47 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,38 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 4,06 (s, 2H). **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO) δ : 171,25, 156,64, 132,34, 128,85, 127,84, 126,85, 46,13. **IV** (ν_{\max} , filme): 3276, 3101, 3070, 1774, 1724, 1598, 1504, 1452, 1431, 1326, 1236, 1184, 769, 740, 711, 636, 609, 578 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 176 (M^+), 119 (100), 92, 91, 77, 64, 56, 51, 41.

(S)-5-benzil-3-fenilimidazolidina-2,4-diona (**17d**)⁷²: Rendimento: 76% (0,30 g, 1,12 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO) δ : 8,52 (s, 1H), 7,39 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,35 – 7,19 (m, 6H), 6,97 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 4,55 (t, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,19 – 2,98 (m, 2H). **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO) δ : 172,50, 155,34, 135,00, 131,92, 129,83, 128,67, 128,09, 127,75, 126,88, 126,49, 57,01, 36,62. **IV** (ν_{\max} , filme): 3245, 1778, 1710, 1500, 1454, 1427, 1350, 1172, 1112, 765, 730, 709 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 266 (M^+), 222, 210, 188, 175, 165, 147, 132, 119, 103, 91(100), 77, 65, 51, 41. $[\alpha]_D^{25} = -184,46$ (c 4,59, MeOH), literatura: $[\alpha]_D^{25} = -159,8$ (c 1,05, MeOH).

(S)-3-(4-bromofenil)imidazolidina-2,4-diona (**17e**)¹⁸⁸: Rendimento: 55% (0,21g, 0,82 mmol). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO) δ : 8,36 (s, 1H), 7,67 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,06 (s, 2H). **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO) δ : 170,88, 156,11, 131,69, 128,56, 120,41, 46,05. **IV** (ν_{\max} , filme): 3236, 3110, 2960, 2923, 1784, 1731, 1490, 1452, 1423, 1323, 1184, 1174, 1072, 1010, 821, 808, 748, 721, 651, 497 cm^{-1} . **CG-**

MS m/z (rel. int. %): 256 (M^{+2}), 254 (M^{+}), 197 (100), 171, 169, 155, 119, 90, 75, 63, 56, 42.

(S)-3-(4-bromofenil)-5-isobutilimidazolidina-2,4-diona (**17f**): Rendimento: 52% (0,24 g, 0,77 mmol). **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO) δ : 8,65 (s, 1H), 7,67 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,33 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,23 (ddd, $J = 8,7, 4,8, 1,1$ Hz, 1H), 1,89 – 1,79 (m, 1H), 1,65 – 1,52 (m, 2H), 0,92 (dd, $J = 6,6, 1,1$ Hz, 6H). **RMN** ^{13}C (100 MHz, DMSO) δ : 173,52, 155,28, 131,68, 131,56, 128,52, 120,41, 54,90, 40,55, 24,08, 23,06, 21,44. **IV** (ν_{max} , filme): 3257, 3114, 2954, 1776, 1724, 1492, 1417, 1168, 1074, 1008, 823 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 312 (M^{+2}), 310 (M^{+}), 256, 197, 175, 147, 120, 90, 63, 55, 43 (100). $[\alpha]_D^{25} = -75,59$ (c 5,07, MeOH)

(S)-5-benzil-3-(4-bromofenil)-imidazolidina-2,4-diona (**17g**): Rendimento: 54% (0,28 g, 0,81 mmol). **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO) δ : 8,59 (s, 1H), 7,61 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,32 – 7,21 (m, 5H), 6,98 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,55 (t, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,11 – 3,02 (m, 2H). **RMN** ^{13}C (100 MHz, DMSO) δ : 172,28, 154,94, 135,00, 131,69, 131,22, 129,77, 128,27, 128,12, 126,90, 120,51, 57,09, 36,63. **IV** (ν_{max} , filme): 3245, 3112, 1778, 1726, 1492, 1404, 1342, 1166, 1074, 1008, 827, 732 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 346 (M^{+2}), 344 (M^{+}), 302, 281, 266, 253, 237, 224, 199, 182, 171, 155, 128, 119, 91 (100), 77, 65, 51. $[\alpha]_D^{25} = -175,85$ (c 4,82, MeOH).

(S)-5-benzil-3-(4-metoxifenil)imidazolidina-2,4-diona (**17h**)¹⁸⁹: Rendimento: 65% (0,29 g, 0,98 mmol). **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO): 8,45 (s, 1H), 7,35 – 7,21 (m, 5H), 6,93 (d, $J = 9,1$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,52 (t, $J = 4,6$ Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,10 – 3,01 (m, 2H). **RMN** ^{13}C (100 MHz, DMSO): 172,69, 158,57, 155,64, 135,05, 129,83, 128,07, 127,85, 126,86, 124,50, 119,89, 113,95, 56,98, 55,33, 36,63. **IV** (ν_{max} , filme): 3411, 3251, 3105, 3002, 2833, 2354, 2327, 1726, 1708, 1633, 1614, 1515, 1446, 1434, 1299, 1253, 1184, 1151, 1107, 829, 767, 756 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 296 (M^{+}), 218, 105, 177, 149, 134, 122, 106, 91 (100), 78, 65, 51, 41. $[\alpha]_D^{25} = -179,81$ (c 5,33, MeOH).

(S)-5-isobutil-3-(4-metoxifenil)imidazolidina-2,4-diona (**17i**)¹⁹⁰: Rendimento: 73% (0,28 g, 1,1 mmol). **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO) δ : 8,52 (s, 1H), 7,23 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,01 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,20 (ddd, $J = 8,9, 4,6, 1,2$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 1,90 – 1,80 (m, 1H), 1,64 – 1,51 (m, 2H), 0,93 (dd, $J = 6,6, 1,4$ Hz, 6H). **RMN** ^{13}C (100 MHz, DMSO) δ : 173,94, 158,52, 155,97, 128,05, 124,82, 119,89, 113,97, 55,35, 54,81, 40,68, 24,09,

23,07, 21,48. **IV** (ν_{\max} , filme): 3242, 3109, 2960, 2358, 2352, 1772, 1741, 1612, 1519, 1469, 1433, 1301, 1255, 1174, 1027, 831, 767 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 262 (M^+), 219, 206, 177, 162, 149 (100), 134, 122, 106, 95, 90, 78, 64, 51. $[\alpha]_D^{25} = -76,85$ (c 4,66, MeOH)

3-(4-metoxifenil)imidazolidina-2,4-diona (**17j**)¹⁹¹: Rendimento: 67% (0,21 g, 1,0 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,23 (s, 1H), 7,24 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,01 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,04 (s, 2H), 3,34 (s, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 171,27, 158,53, 156,78, 128,11, 124,88, 113,98, 55,36, 45,98. **IV** (ν_{\max} , filme): 3236, 3109, 2974, 2931, 2844, 1782, 1722, 1612, 1519, 1456, 1433, 1328, 1301, 1253, 1184, 1029, 823, 734, 680 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 206 (M^+), 149 (100), 135, 134, 122, 108, 106, 90, 78, 63, 56, 51.

(S)-5-benzil-3-(2-cloroetil)imidazolidina-2,4-diona (**17k**)¹⁹²: Rendimento: 73% (0,29 g, 1,1 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,33 (s, 1H), 7,29 – 7,22 (m, 3H), 7,17 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 4,42 (t, $J = 4,7$ Hz, 1H), 3,55 – 3,47 (m, 4H), 2,96 (qd, $J = 14,0, 5,1$ Hz, 2H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 173,36, 156,00, 135,25, 129,64, 128,12, 126,74, 57,11, 40,54, 39,20, 36,59. **IV** (ν_{\max} , filme): 3307, 3066, 3029, 2952, 2918, 1774, 1718, 1456, 1434, 1352, 1257, 1199, 1137, 765, 746, 700, 487 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 252 (M^+), 216, 175, 161, 146, 128, 117, 103, 91 (100), 77, 65, 51, 41. $[\alpha]_D^{25} = -106,29$ (c 5,83, MeOH).

(S)-3-(2-cloroetil)-5-isobutilimidazolidina-2,4-diona (**17l**): Rendimento: 80% (0,26 g, 1,2 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,41 (s, 1H), 4,09 (dd, $J = 9,3, 4,3$ Hz, 1H), 3,78 – 3,73 (m, 2H), 3,69 - 3,64 (m, 2H), 11,83 - 1,73 (m, 1H), 1,56 - 1,49 (m, 1H), 1,43 – 1,36 (m, 1H), 0,89 (dd, $J = 6,6, 2,0$ Hz, 6H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 174,68, 156,40, 54,88, 41,15, 40,83, 39,41, 24,10, 23,14, 21,46. **IV** (ν_{\max} , filme): 3948, 3245, 3107, 2956, 2871, 1764, 1726, 1454, 1417, 1367, 1334, 1151, 1126, 997, 921, 867, 756, 705, 671, 644, 493 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 218 (M^+), 177, 175, 162 (100), 147, 141, 126, 106, 100, 85, 70, 57, 53, 43.

(S)-3-(2-cloroetil)-5-isopropilimidazolidina-2,4-diona (**17m**): Rendimento: 89% (0,27 g, 1,3 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,31 (s, 1H), 3,99 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 3,81 – 3,63 (m, 4H), 2,09 – 1,99 (m, 1H), 0,95 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 0,80 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 173,62, 156,75, 61,42, 41,20, 39,36, 29,62, 18,52, 15,85. **IV** (ν_{\max} , filme): 3298, 3182, 2966, 2908, 2875, 1758, 1703, 1452, 1419, 1361,

1325, 1209, 1139, 1037, 935, 891, 808, 763, 707, 663 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 205 (M^+), 189, 162 (100), 161, 141, 126, 125, 113, 100, 98, 85, 72, 70, 56, 53. $[\alpha]_D^{25} = -61,44$ (c 6,25, MeOH).

3-(2-cloroetil)imidazolidina-2,4-diona (**17n**)¹⁹²: Rendimento: 86% (0,20 g, 1,3 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,13 (s, 1H), 3,94 (d, $J = 1,0$ Hz, 2H), 3,76 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO) δ : 171,96, 157,14, 45,85, 41,04, 39,43. **IV** (U_{max} , filme): 3323, 2989, 2906, 1770, 1712, 1631, 1461, 1425, 1377, 1342, 1132, 935, 892, 765, 748, 659, 599, 468 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 164, 162 (M^+), 148, 129, 127 (100), 115, 113, 101, 100, 90, 85, 78, 70, 63, 56, 49, 42.

5.10- Síntese do composto 7-hidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (**18**)¹⁵²

Em um balão de fundo redondo provido de agitação magnética, adicionou-se o 2,4-hidroxibenzaldeído (0,51 g, 3,7 mmol), malonato de dietila (1,3 g, 7,9 mmol) e piperidina (10 gotas). A reação se processou por duas horas à temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado HCl 1M (10 mL) e o precipitado foi lavado com água destilada gelada (10 mL). O sólido resultante foi purificado em uma coluna cromatográfica, utilizando mistura diclorometano: acetato de etila (7:3), como fase móvel. O produto foi obtido como um sólido amarelo com 88% de rendimento (0,75 g, 3,2 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO) δ : 11,06 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 7,75 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,84 (dd, $J = 8,6, 2,2$ Hz, 1H), 6,72 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 4,26 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,29 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO) δ : 164,04, 162,94, 157,10, 156,38, 149,40, 132,09, 113,99, 112,11, 110,42, 101,78, 60,79, 14,12. **IV** (U_{max} , filme): 3552, 3471, 3056, 2997, 1737, 1679, 1620, 1606, 1448, 1382, 1299, 1245, 1224, 1145, 1116, 1037, 844, 800.

5.11- Síntese das hidantoínas 5,5-dissubstituídas pela reação de Bucherer-Bergs em aquecimento convencional (**20a-d**)

Em um balão de fundo redondo, provido de agitação magnética, dissolveu-se as cetonas (5,0 mmol) em uma mistura de etanol: água 50% (10 mL). Em seguida, foram adicionados o cianeto de potássio (7,5 mmol, 0,49 g) e carbonato de

amônio (17 mmol, 1,7 g). A reação se processou em 30 horas a 80°C (vide tabela 3.18). Acoplou-se um recipiente no condensador de refluxo contendo uma solução de hidróxido de sódio diluída, a fim de neutralizar possível ácido cianídrico gerado *in situ*. Finda a reação, evaporou-se o etanol em um rotaevaporador e, em seguida, a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, e o filtrado concentrado. Os produtos foram recristalizados utilizando como solvente metanol e hexano (1:10). Todos os compostos foram obtidos como sólidos brancos.

5-metil-5-fenilimidazolidina-2,4-diona (**20a**)¹⁹³: Rendimento: 92% (0,87 g, 4,6 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 10,76 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,47 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,39 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,32 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 1,65 (s, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 176,98, 156,25, 139,93, 128,48, 127,82, 125,32, 63,91, 24,95. **IV** (ν_{\max} , filme): 3282, 3207, 3062, 2989, 1770, 1724, 1496, 1450, 1400, 1367, 1249, 1230, 1153, 1107, 1018, 960, 875, 786, 694, 482 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 190 (M^+), 175, 161, 147, 133, 132, 119, 116, 104 (100), 101, 91, 77, 76, 63, 58, 51.

5-etil-5-metilimidazolidina-2,4-diona (**20b**)¹⁶³: Rendimento: 74% (0,52 g, 3,7 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 10,55 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 1,61 (dq, $J = 14,7, 7,4$ Hz, 1H), 1,50 (dq, $J = 14,7, 7,4$ Hz, 1H), 1,22 (s, 3H), 0,76 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 178,54, 156,48, 62,49, 30,13, 23,30, 7,74. **IV** (ν_{\max} , filme): 3228, 3047, 2975, 2937, 2748, 2354, 2339, 1737, 1712, 1465, 1434, 1425, 1377, 1311, 1243, 1211, 1153, 1134, 1056, 1033, 958, 904, 802, 771, 756, 646, 582, 441 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 142 (M^+), 127, 113 (100), 112, 107, 99, 96, 84, 81, 73, 70, 66, 58, 56, 52.

5-metil-5-propilimidazolidina-2,4-diona (**20c**)¹⁹⁴: Rendimento: 65% (0,51 g, 3,3 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 10,54 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 1,59 - 1,42 (m, 2H), 1,34 - 1,24 (m, 1H), 1,22 (s, 3H), 1,15 - 1,02 (m, 1H), 0,85 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) δ : 178,65, 156,40, 62,10, 39,40, 23,67, 16,51, 13,87. **IV** (ν_{\max} , filme): 3238, 3041, 2956, 2933, 2873, 2758, 2462, 2432, 1766, 1712, 1433, 1377, 1321, 1276, 1197, 1137, 1076, 1045, 950, 811, 775, 649, 597, 449 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 157 (M^+), 141, 127, 114, 113 (100), 100, 94, 84, 72, 70, 65, 57, 53.

5,5-dimetilimidazolidina-2,4-diona (**20d**)¹⁹⁵: Rendimento: 88% (0,57 g, 4,4 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 10,54 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 1,24 (s, 6H). **RMN ¹³C** (100

MHz, DMSO) δ : 179,14, 155,93, 58,84, 24,62. **IV** (ν_{\max} , filme): 3226, 3099, 3049, 2972, 2754, 1770, 1739, 1708, 1442, 1380, 1290, 1213, 1147, 1054, 925, 798, 769, 649, 649, 592, 449 cm^{-1} . **CG-MS** m/z (rel. int. %): 127 (M^+), 113 (100), 112, 84, 70, 56, 52.

5.12 - Síntese dos compostos 21a-d

A uma suspensão dos compostos **4a-c** (0,80 mmol, 1,0 equiv.) e **4d** (1,0 mmol, 1,0 equiv.) em etanol (2,0 mL), adicionou-se o hidróxido de potássio (1,0 equiv.) e em seguida o 1-bromo-2-cloroetano (2,0 equiv.). A mistura reacional foi agitada por 12 horas em refluxo. Por fim, evaporou-se o solvente em um rotaevaporador e produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando sílica flash e mistura de hexano: acetato de etila (7:3). Os produtos foram obtidos como óleos amarelos.

3-(2-cloroetil)-5-metil-5-fenilimidazolidina-2,4-diona (**21a**): Rendimento: 80% (0,20 g, 0,79 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,99 (s, 1H), 7,48 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,40 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,34 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,83 – 3,79 (m, 2H), 3,76 – 3,71 (m, 2H), 1,69 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO) δ : 175,27, 155,25, 139,39, 128,52, 127,99, 125,47, 62,79, 41,26, 39,62, 24,82. **CG-MS** m/z (rel. int. %): 252 (M^+), 237, 223, 209, 189, 175, 161, 146, 133, 132, 119, 104 (100), 91, 78, 77, 56, 51.

3-(2-cloroetil)-5-etil-5-metilimidazolidina-2,4-diona (**21b**)¹⁹⁶: Rendimento: 75% (0,12 g, 0,59 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,26 (sl, 1H), 3,79 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,69 (dd, $J = 8,8, 3,6$ Hz, 2H), 1,67 (dq, $J = 14,7, 7,4$ Hz, 1H), 1,56 (dq, $J = 14,7, 7,4$ Hz, 1H), 0,77 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO) δ : 176,73, 155,47, 61,44, 41,29, 39,41, 30,14, 23,36, 7,70. **CG-MS** m/z (rel. int. %): 204 (M^+), 189, 175 (100), 169, 155, 139, 127, 125, 113, 106, 98, 84, 72, 70, 56, 53.

3-(2-cloroetil)-5-metil-5-propilimidazolidina-2,4-diona (**21c**): Rendimento: 84% (0,15 g, 0,68 mmol). **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,29 (s, 1H), 3,78 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 1,64 - 1,48 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 1,15 – 1,04 (m, 1H), 0,84 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO) δ : 176,84, 155,41, 61,08, 41,30, 39,42, 23,73, 16,44, 13,85. **CG-MS** m/z (rel. int. %): 219 (M^+), 203, 189, 175 (100), 169, 161, 147, 141, 126, 115, 106, 98, 84, 70, 57, 54.

3-(2-cloroetil)-5,5-dimetilimidazolidina-2,4-diona (**21d**): Rendimento¹⁹⁷: 92% (0,14 g, 0,74 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO) δ : 8,35 (sl, 1H), 3,79 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,29 (s, 6H). **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO) 177,29, 154,93, 57,78, 41,24, 24,59. **CG-MS** m/z (rel. int. %): 190 (M^+), 175 (100), 155, 141, 128, 113, 99, 84, 70, 63, 57.

5.13 – Síntese dos compostos híbridos (22a-b)

Em um balão de fundo redondo, provido de agitação magnética, a cumarina **18** (1,0 equiv., 0,06 M) foi adicionada a uma suspensão de NaH 60% (1,0 equiv.) em DMF e a solução foi agitada por 10 minutos. Em seguida, as correspondentes hidantoínas (1,1 equiv.) e o KI (5 mol %) foram adicionadas à mistura reacional (vide tabela 3.19). O sistema foi aquecido por 120 °C por 30 horas. Após esse período, o bruto reacional foi neutralizado, extraído com acetato de etila e lavado com solução saturada de NaCl. Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto purificado em uma coluna cromatográfica utilizando sílica flash e uma mistura de diclorometano: hexano: acetona (5:5:1) e 1% de trietilamina como eluente. Os produtos foram obtidos como óleos amarelos.

7-(2-(4-Propil-4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)etoxi)-2-oxo-2*H*-cromeno-3-carboxilato de etila (**22a**): O produto foi obtido como um sólido amarelo. Rendimento: 24% (40 mg, 0,1 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, CD₃OD) δ : 8,66 (s, 1H), 7,69 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,96 – 6,92 (m, 2H), 4,35 (q, $J = 7,2$ Hz, 4H), 3,91 (dd, $J = 9,5, 5,3$ Hz, 2H), 1,71 (ddd, $J = 13,8, 11,9, 4,9$ Hz, 1H), 1,58 (ddd, $J = 13,8, 12,1, 4,6$ Hz, 1H), 1,38 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,34 (s, 3H), 1,32 – 1,25 (m, 1H), 1,14 - 1,02 (m, 1H), 0,83 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CD₃OD) δ : 179,30, 165,63, 164,66, 159,07, 158,67, 158,12, 150,69, 132,68, 114,99, 114,87, 113,42, 102,05, 66,47, 63,13, 62,62, 40,93, 38,58, 24,17, 17,97, 14,50, 14,20. **LC-MS**: 417 (M^+H), 439, 456, 436.

7-(2-(4-metil-4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)etoxi)-2-oxo-2*H*-cromeno-3-carboxilato de etila (**22b**): O produto foi obtido como um sólido branco. Rendimento: 11% (21 mg, 0,05 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, CD₃OD) δ : 8,48 (s, 1H), 7,48 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,86 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H), 6,80 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,42 (s, 1H), 4,38 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 4,27 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,94 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,42 (s, 6H), 1,38 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CD₃OD) δ : 163,83, 163,52, 155,84, 148,95,

142,80, 130,97, 129,70, 113,83, 101,33, 72,42, 65,02, 61,89, 59,11, 44,52, 37,57, 31,06, 29,82, 25,15, 25,08, 22,86, 14,39.

5.14 - Síntese das hidantoínas 5- e 5,5- dissustituídas através da Reação de Bucherer-Bergs em fluxo contínuo

Para os experimentos em fluxo contínuo, duas bombas seringas de alta pressão (SyrDosTM, HiTec Zang), um loop de amostra (0,5 ou 3,0 mL) e um reator tubular Hastelloy (16 mL de volume interno) conectado a um módulo de aquecimento (Asia Flow Chemistry) foram utilizados (vide tabela 3.23). A pressão interna do sistema foi controlada com auxílio de um regulador de pressão ajustável (Swagelok) mantido a 120°C por uma chapa de aquecimento. A linha A contendo o composto carbonílico dissolvido em acetato de etila, numa vazão de 70 $\mu\text{L min}^{-1}$, foi conectada por um misturador T com a segunda linha (vazão 430 $\mu\text{L min}^{-1}$) que continha a solução aquosa de carbonato de amônio (3,5 equiv.) e cianeto de potássio (1,5 equiv.). A mistura resultante foi bombeada para o interior do reator tubular aquecido à 120°C. A reação se processou em 32 minutos, à 20 bar. Após esse período, o bruto reacional foi coletado em um tubo fechado e neutralizado. As reações foram extraídas com acetato de sódio (3 x 20 mL) resultando nos produtos desejados analiticamente puros, sem a necessidade de purificação por coluna cromatográfica ou recristalização.

5-metil-5-fenilimidazolidina-2,4-diona (**20a**): Linha A: acetofenona (2,53 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (2,88 M) em H_2O . Rendimento: 91 % (440 mg, 2,31 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 197-199 °C (lit. 196-198 °C). Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C corroboraram com aqueles obtidos da síntese convencional.

5-fenil-imidazolidina-2,4-diona (**20e**): Linha A: benzaldeído (2,51 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (2,88 M) em H_2O . Rendimento: 91 % (401 mg, 2,28 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 180-183 °C (lit.¹⁹³ 176-178 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, DMSO) δ : 10,79 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,44-7,32 (m, 5H), 5,16 (s, 1H). **RMN** ¹³C (75 MHz, DMSO) δ : 174,65, 157,95, 136,50, 129,11, 128,70, 127,15, 61,64.

5-benzil-imidazolidina-2,4-diona (**20f**): Linha A: fenilacetaldeído (2,52 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), (NH₄)₂CO₃ (2,88 M) em H₂O. Rendimento: 72 % (346 mg, 1,82 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf**: 186-188 °C (lit.¹⁹⁸ 181-183 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 10,43 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,31-7,17 (m, 5H), 4,33 (t, J = 4,6 Hz, 1H), 2,99-2,87 (m, 2H). **RMN** ¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 175,63, 157,56, 136,07, 130,18, 128,52, 127,10, 58,84, 36,86.

5-etil-5-fenilimidazolidina-2,4-diona (**20g**): Linha A: propilfenona (2,48 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), (NH₄)₂CO₃ (2,88 M) em H₂O. Rendimento: 90 % (455 mg, 2,23 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 193-195 °C (lit.¹⁹³ 194-196 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 10,80 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 7,52-7,49 (m, 2H), 7,42-7,29 (m, 3H), 2,07 (dq, J = 7,2, 14,4 Hz, 1H), 1,89 (dq, J = 7,4, 14,7 Hz, 1H), 0,81 (t, J = 7,3 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 176,96, 157,43, 139,62, 128,85, 128,15, 125,85, 68,46, 31,61, 8,50.

5-(4-Fluoro-fenil)-5-metil-imidazolidina-2,4-diona (**20h**): Linha A: 4-fluoroacetofenona (2,47 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), (NH₄)₂CO₃ (2,88 M) em H₂O. Rendimento: 78 % (400 mg, 1,92 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf**: 209-210 °C (lit.¹⁹⁹ 212-215 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 10,80 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 7,53-7,49 (m, 2H), 7,23 (t, J = 8,9 Hz, 2H), 1,64 (s, 3H). **RMN** ¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 177,29, 163,76, 160,53, 156,59, 136,60 (d, J_{C-C-F} = 2,9 Hz), 127,97 (d, J_{C-F} = 8,4 Hz), 115,69 (d, J_{C-F} = 21,46 Hz), 63,96, 25,64.

5-(2-hidroxi-fenil)-5-metil-imidazolidina-2,4-diona (**20i**): Linha A: 2'-hidroxiacetofenona (2,54 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), (NH₄)₂CO₃ (2,88 M) em H₂O. Rendimento: 95 % (500 mg, 2.42 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf**: 232-234 °C (lit.²⁰⁰ 229-230 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 10,52 (s, 1H), 9,84 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,31 (dd, J = 1,4, 7,7 Hz, 1H), 7,17 (td, J = 1,6, 7,7 Hz, 1H), 6,83-6,76 (m, 2H), 1,63 (s, 3H). **RMN** ¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 178,99, 157,32, 156,13, 129,83, 128,00, 125,49, 118,94, 116,11, 62,13, 24,15. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₀H₁₀N₂O₃ [(M+H)]⁺ 207,076419, encontrado 207,076455.

5-metil-5-[4]piridil-imidazolidina-2,4-diona (**20j**): Linha A: 4-acetilpiridina (2,53 mmol, 5,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (1,24 M), (NH₄)₂CO₃ (2,88 M) em H₂O. Rendimento: 88 % (428 mg, 2.24 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 232-234

°C (lit.²⁰¹ 234-235 °C). **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 10,93 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,60 (dd, *J* = 1,6, 4,5 Hz, 2H), 7,48 (dd, *J* = 1,7, 4,5 Hz, 2H), 1,66 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 176,31, 156,58, 150,37, 148,92, 120,89, 63,90, 25,13. **HRMS (APCI):** *m/z* calculado para C₉H₉N₃O₂ [(M+H)]⁺ 192,076753, encontrado 192,076861.

5-(3-metoxifenil)-imidazolidina-2,4-diona (**20k**): Linha A: *m*-anisalaldeído (1,52 mmol, 3,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (0,74 M), (NH₄)₂CO₃ (1,73 M) em H₂O. Rendimento: 92 % (287 mg, 1,40 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf:** 129-131 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 10,78 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,32 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,94-6,88 (m, 3H), 5,14 (s, 1H), 3,76 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 174,44, 159,85, 157,93, 137,97, 130,23, 119,11, 114,05, 112,87, 61,52, 55,61, 55,57. **HRMS (APCI):** *m/z* calculado para C₁₀H₁₀N₂O₃ [(M+H)]⁺ 207,076419, encontrado 207,076566.

1,3-Diazospiro [4,5] decano-2,4-diono (**20l**): Linha A: cicloexanona (1,01 mmol, 2,0 M em EtOAc). Linha B: KCN (0,49 M), (NH₄)₂CO₃ (1,15 M) em H₂O. Rendimento: 99 % (168 mg, 0,99 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf:** 218-219 °C (lit.¹⁹⁵ 220 °C). **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 10,51 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 1,64-1,42 (m, 9H), 1,30-1,20 (m, 1H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 178,95, 156,78, 62,46, 33,68, 24,91, 21,28.

5.14.1 - Síntese em fluxo contínuo da spiro(hidantoin-5,2'-tetralina (20m)

A linha A (vazão de 200 μL min⁻¹) contendo a β-tetralona (1,47 mmol, 0,5 M, 3,0 mL loop de injeção) dissolvida em EtOAc/DMF (1:2) foi conectada por um misturador T com a segunda linha (vazão 300 μL min⁻¹) que continha a solução aquosa de carbonato de amônio (1,14 M) e cianeto de potássio (0,49 M). As misturas resultantes foram bombeadas para o interior do reator tubular aquecido à 120°C. A reação se processou em 32 minutos, a 20 bar. Após esse período, o bruto reacional foi coletado em um tubo fechado neutralizado. A reação foi extraída com acetato de sódio (3 x 20 mL), lavada com água, e as fases orgânicas foram concentradas. O produto foi obtido como um sólido branco. Rendimento: 96% (304 mg, 1,40 mmol). **Pf:** 258-260 °C (lit.²⁰² 267 °C). **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 10,71 (s, 1H), 8,32 (s, 1H),

7,13-7,07 (m, 4H), 3,11 (d, $J = 16,9$ Hz, 1H), 2,91 (dd, $J = 5,9, 10,5$ Hz, 2H), 2,77 (d, $J = 17,0$ Hz, 1H), 2,94-2,88 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,84-1,77 (m, 1H). **RMN ^{13}C** (75 MHz, DMSO) δ : 178,65, 156,77, 135,30, 133,06, 129,42, 129,03, 126,41, 126,32, 61,18, 37,28, 30,49, 25,16.

5.14.2 – Síntese em fluxo contínuo da 5,5-dimetil-2,4-imidazolidinadiona (20d)

A linha A (vazão de $30 \mu\text{L min}^{-1}$) contendo a acetona (40,8 mmol, 3,0 mL) foi conectada por um misturador T com a segunda linha (vazão $470 \mu\text{L min}^{-1}$) que continha a solução aquosa de carbonato de amônio (3,0 M) e cianeto de potássio (0,49 M). A mistura resultante foi bombeada para o interior do reator tubular aquecido à 120°C e mantido à 20 bar, por 32 minutos. Após esse período, o bruto reacional foi coletado em um tubo fechado e neutralizado. Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto foi obtido através de cristalização (60%). A fase aquosa resultante foi extraída com AcOEt (2 x 30 mL), e após concentração da fase orgânica, acrescentou-se 22% no rendimento da reação. Rendimento total: 82% (4,31 g, 33,6 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: $170-172^\circ\text{C}$ (lit.¹⁶⁴ $171-172^\circ\text{C}$). Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C corroboraram com aqueles obtidos através da metodologia convencional.

5.15 – Síntese das hidantoínas 3(N)-substituídas (24a,c-f, i-k)

Em um tubo de micro-ondas de 10 mL provido de agitação magnética, as respectivas hidantoínas (**20a, e-m**, 0,5 mmol; **20d**, 1,0 mmol), K_2CO_3 (1,1 equiv.) e o brometo de (5-bromopentil) trimetilamônio (1,2 equiv.) foram adicionados em 2,0 mL de MeCN (vide tabela 3.26). As reações se processaram por 10-45 minutos, à 120°C . Após resfriamento, as misturas reacionais foram filtradas e as fases orgânicas concentradas. Por fim, o bruto obtido foi lavado com EtOH gelado, resultando nos compostos de interesse. Todos os produtos foram obtidos como sólidos brancos.

Brometo de 5-(4-metil-2,5-dioxo-4-fenilimidazolidin-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24a**): Tempo reacional: 10 min. Rendimento: 66 % (130 mg, 0,33 mmol). **Pf**:

222-224 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 8,90 (s, 1H), 7,49-7,31 (m, 5H), 3,39 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,34 – 3,29 (m, 2H), 3,25-3,19 (m, 2H), 3,02 (s, 9H), 1,68 (s, 3H), 1,60-1,50 (m, 2H), 1,25-1,15 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 175,85, 156,11, 140,06, 129,05, 128,43, 125,81, 65,46, 63,14, 52,60, 52,56, 52,52, 37,94, 27,54, 25,40, 23,42, 22,03. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₈H₂₈N₃O₂ [(M-Br)⁺] 318,217604, encontrado 318,217459.

Brometo de 5-(4-benzil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24c**): Tempo reacional: 45 min. Rendimento: 48 % (95 mg, 0,24 mmol). **Pf**: 197-199 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 7,28-7,19 (m, 3H), 7,12 (dd, *J* = 1,9, 7,5 Hz, 2H), 4,43 (t, *J* = 4,3 Hz, 1H), 3,23 (dt, *J* = 6,2, 14,0 Hz, 1H), 3,11 (dd, *J* = 6,5, 7,6 Hz, 1H), 3,05 (d, *J* = 4,2 Hz, 2H), 3,01 (d, *J* = 3,5 Hz, 2H), 2,98 (s, 9H), 1,56-1,41 (m, 2H), 1,12-1,03 (m, 2H), 0,67-0,57 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 176,45, 158,83, 134,03, 130,01, 128,42, 127,30, 66,26, 57,71, 52,77, 52,72, 52,67, 37,60, 35,63, 26,38, 22,09, 21,60. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₈H₂₈N₃O₂ [(M-Br)⁺] 318,217604, encontrado: 318,217337.

Brometo de 5-(4-etil-2,5-dioxo-4-fenilimidazolidin-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24d**): Tempo reacional: 30 min. Rendimento: 82 % (170 mg, 0,41 mmol). **Pf**: 230-232 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 7,47-7,31 (m, 5H), 3,43 (td, *J* = 2,6, 6,7 Hz, 2H), 3,05 (dd, *J* = 8,5, 17,3 Hz, 2H), 2,93 (s, 9H), 2,20 (dq, *J* = 7,3, 14,5 Hz, 1H), 2,05 (dq, *J* = 7,4, 14,7 Hz, 1H), 1,68-1,49 (m, 4H), 1,19-1,07 (m, 2H), 0,78 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 177,83, 158,47, 137,24, 129,11, 128,77, 125,40, 68,15, 66,25, 52,74, 52,69, 52,64, 37,96, 29,88, 26,49, 22,48, 21,54, 7,16. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₉H₃₀N₃O₂ [(M-Br)⁺] 332,233254, encontrado 332,233085.

Brometo de 5-(4-(4-fluorofenil)-4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24e**): Tempo reacional: 45 min. Rendimento: 52 % (109 mg, 0,26 mmol). **Pf**: 223-225 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 7,44-7,37 (m, 2H), 7,12-7,04 (m, 2H), 3,42 (td, *J* = 2,3, 6,8 Hz, 2H), 3,14-3,03 (m, 2H), 2,95 (s, 9H), 1,71 (s, 3H), 1,68-1,59 (m, 2H), 1,57-1,49 (m, 2H), 1,18-1,14 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 178,42, 164,14, 160,89, 157,95, 133,82 (d, *J*_{C-C-F} = 3,0 Hz), 127,40 (d, *J*_{C-C-F} = 8,6 Hz), 115,74 (d, *J*_{C-F} = 21,8 Hz), 66,23, 63,43, 52,75, 52,70, 52,65, 38,00, 26,51, 22,97, 22,46, 21,58. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₈H₂₇FN₃O₂ [(M-Br)⁺] 336,208182, encontrado 336,208143.

Brometo de 5-(4-(2-hidroxifenil)-4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24f**): Tempo reacional: 30 min. Rendimento: 65 % (134 mg, 0,32 mmol). **Pf**: 265 °C (decomp.). **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 7,40 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,24 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,91 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 3,55-3,43 (m, 2H), 3,23-3,18 (m, 2H), 3,00 (s, 9H), 1,80-1,75 (m, 2H), 1,71 (s, 3H), 1,65-1,57 (m, 2H), 1,37-1,27 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 180,93, 158,71, 154,48, 130,85, 128,07, 123,35, 120,24, 116,23, 66,39, 61,52, 52,77, 52,74, 52,71, 38,14, 26,44, 22,71, 22,07, 21,71. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₈H₂₈N₃O₃ [(M-Br)]⁺ 334,212518, encontrado 334,212404.

Brometo de 5-(2,4-dioxo-1,3-diazaspiro[4.5]decan-3-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24i**): Tempo reacional: 30 min. Rendimento: 58 % (110 mg, 0,29 mmol). **Pf**: 150-152 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 3,40 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,22-3,16 (m, 2H), 3,00 (s, 9H), 1,85-1,51 (m, 11H), 1,41-1,17 (m, 5H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 180,38, 158,03, 66,28, 62,50, 52,79, 52,74, 52,69, 37,73, 32,55, 26,63, 23,89, 22,49, 21,69, 20,94. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₆H₃₀N₃O₂ [(M-Br)]⁺ 296,233254, encontrado 296,233369.

Brometo de 5-(2,5-dioxo-3',4'-diidro-2'H-spiro[imidazolidina-4,1'-naftalen]-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24j**): Tempo reacional: 45 min. Rendimento: 40 % (83,6 mg, 0,20 mmol). **Pf**: 181-183 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 7,14-7,10 (m, 3H), 7,07 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,44 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,23-3,19 (m, 2H), 3,14 (d, *J* = 16,4 Hz, 1H), 3,00 (s, 9H), 2,94-2,84 (m, 2H), 2,77 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H), 2,08-1,98 (m, 1H), 1,89-1,85 (m, 1H), 1,79-1,68 (m, 2H), 1,64-1,55 (m, 2H), 1,31-1,21 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 179,48, 158,11, 134,59, 131,90, 129,25, 128,77, 126,73, 126,31, 66,37, 60,96, 52,80, 52,74, 52,69, 37,89, 36,21, 29,49, 26,68, 24,49, 22,55, 21,70. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₂₀H₃₀N₃O₂ [(M-Br)]⁺ 344,233254, encontrado 344,233240.

Brometo de 5-(4,4-dimetil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-*N,N,N*-trimetilpentan-1-amínio (**24k**): Tempo de reação: 45 min. Rendimento: 58 % (195 mg, 0,58 mmol). **Pf**: 198-200 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O) δ: 3,40 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,24-3,17 (m, 2H), 3,00 (s, 9H), 1,78-1,67 (m, 2H), 1,61-1,52 (m, 2H), 1,30 (s, 6H), 1,25-1,18 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75 MHz, D₂O) δ: 181,01, 157,68, 66,35, 59,03, 52,83, 52,78, 52,72, 37,88, 26,66, 23,37, 22,53, 21,73. **HRMS (APCI)**: *m/z* calculado para C₁₃H₂₆N₃O₂ [(M-Br)]⁺ 256,201954, encontrado 256,201924.

5.16 – Funcionalização C-H em fluxo contínuo

Para as reações de trifluor e perfluor-alkilação em fluxo contínuo, três bombas seringas de alta pressão (2 Asia Syrris e uma bomba de CLAE), um loop de injeção (5,0 mL) e um microchip Uniqsis (1,8 mL) foram utilizados. A linha A (vazão 4,75 mL min⁻¹) contendo a mistura do substrato (2,0 mmol, 0,32 M), FeSO₄·7H₂O (0,4 equiv. 0,2g), trifluor-iodometano ou nonafluoro-1-iodobutano (1,6 equiv.) e H₂SO₄ (0,8 equiv., 43,0 µL) dissolvidos em DMSO: MeCN (5,4 mL, 2:1), e a linha B (vazão 0,25 mL min⁻¹) carregando H₂O₂ 30% (1,6 equiv.) foram conectadas diretamente ao microreator, mantido a 0°C (vide tabela 3.31). A reação se processou em 22 segundos. Uma terceira bomba (linha C: vazão 5,0 mL min⁻¹), contendo Na₂S₂O₃ (1M), foi conectada na saída do microchip, para que a reação fosse imediatamente interrompida. Os produtos foram coletados em um frasco aberto e purificados através de coluna cromatográfica.

3-Metil-2-(trifluormetil)-1H-indol (**25a**): A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo: acetato de etila (0 - 4%) como eluente. Rendimento: 60 % (237 mg, 1,19 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 65,9-68,7 °C (lit.²⁰³ 73,0-74,0 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,18 (s, 1H), 7,65 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,35 (ddd, *J* = 11,3, 8,9, 4,5 Hz, 2H), 7,20 (ddd, *J* = 8,0, 6,8, 1,2 Hz, 1H), 2,45 (q, *J* = 1,8 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 135,32, 128,19, 124,89, 121,67 (q, *J*_{C-C-F} = 36,7 Hz), 120,51, 120,23, 114,20 (q, *J*_{C-C-C-F} = 3,0 Hz), 111,70, 8,42. **RMN** ¹⁹F (282 MHz, CDCl₃) δ: -58,63 (s, 3F).

3-Metil-2-(perfluorbutil)-1H-indol (**25b**): A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo: acetato de etila (0 - 4%) como eluente. Rendimento: 71 % (494 mg, 1,41 mmol). O produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf**: 70,0-71,1 °C (lit.²⁰⁴ 67,1-68,8 °C). **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,17 (s, 1H), 7,66 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,44 – 7,30 (m, 2H), 7,21 (ddd, *J* = 8,0, 6,8, 1,2 Hz, 1H), 2,45 (t, *J* = 2,2 Hz, 3H). **RMN** ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 136,09, 128,49, 125,10, 120,53, 120,23, 119,57 (t, *J*_{C-C-F} = 28,4 Hz), 116,89 (t, *J*_{C-C-C-F} = 3,4 Hz), 111,66, 8,67 (d, *J* = 1,4 Hz). **RMN** ¹⁹F (282 MHz, CDCl₃) δ: -80,99 (tt, *J* = 9,7, 2,6 Hz, 3F), -108,76 – -108,93 (m, 2F), -122,93 – -123,18 (m, 2F), -125,85 – -126,11 (m, 2F).

2-(Perfluorbutil)-1H-indol (**25c**): A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo: acetato de etila (0 - 10%) como eluente. Rendimento: 34 % (230 mg, 0,69 mmol). O

produto foi obtido como um sólido amarelo. **Pf:** 43,2-44,8 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ: 12,20 (s, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,50 (dd, *J* = 8,3, 0,8 Hz, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,14 (ddd, *J* = 8,0, 7,1, 0,9 Hz, 1H), 7,04 (s, 1H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 137,30, 126,29, 124,33, 122,90 (t, *J*_{C-C-F} = 29,7 Hz), 121,67, 120,48, 112,42, 105,26 (t, *J*_{C-C-C-F} = 4,7 Hz). **RMN ¹⁹F** (282 MHz, DMSO) δ: -80,53 (ddd, *J* = 12,4, 6,2, 3,0 Hz, 3F), -107,12 (t, *J* = 12,1 Hz, 2F), -122,02 – -123,17 (m, 2F), -124,99 – -125,99 (m, 2F).

2-(Trifluormetil)-1H-indol (**25d**): A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo: acetato de etila (0 - 10%) como eluente. Rendimento: 30 % (111 mg, 0,60 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf:** 94,2-95,8 °C (lit.²⁰³ 107,0-108,0 °C). **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 12,25 (s, 1H), 7,67 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,29 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,13 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,01 (s, 1H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 136,73, 125,93, 124,80 (q, *J*_{C-C-F} = 38,1 Hz), 124,23, 121,75, 121,62 (q, *J*_{C-F} = 267,5 Hz), 120,42, 112,34, 103,13 (q, *J*_{C-C-C-F} = 3,4 Hz). **RMN ¹⁹F** (282 MHz, DMSO) δ -58,82 (s, 3F).

2-(Perfluorbutil)-1-fenil-1H-pirrol (**25e**): Substrato: 1-Fenilpirrol. A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo como eluente. Rendimento: 90 % (645 mg, 1,78 mmol). O produto foi obtido como um óleo amarelo. **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,46 – 7,40 (m, 3H), 7,38 – 7,31 (m, 2H), 6,91 – 6,86 (m, 1H), 6,77 – 6,71 (m, 1H), 6,33 (dd, *J* = 3,7, 2,9 Hz, 1H). **RMN ¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 139,81, 129,21-129,19 (m), 128,76, 127,52, 121,31, 120,23 (t, *J*_{C-C-F} = 29,7 Hz), 115,24 (t, *J*_{C-C-C-F} = 5,4 Hz), 108,84. **RMN ¹⁹F** (282 MHz, CDCl₃) δ: -81,09 (tt, *J* = 9,8, 2,9 Hz, 3F), -101,15 (t, *J* = 13,3 Hz, 2F), -121,30 – -121,59 (m, 2F), -125,79 – -125,98 (m, 2F).

1-Fenil-2-(trifluormetil)-1H-pirrol (**25f**): A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo como eluente. Rendimento: 66 % (278 mg, 1,31 mmol). O produto foi obtido como um óleo amarelo. **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,48 – 7,42 (m, 3H), 7,41 – 7,36 (m, 2H), 6,89 (dd, *J* = 2,5, 2,1 Hz, 1H), 6,74 (ddd, *J* = 3,7, 1,7, 0,8 Hz, 1H), 6,30 – 6,25 (m, 1H). **RMN ¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 139,27, 129,12, 128,63, 127,42-127,39 (m), 126,65, 112,89 (q, *J*_{C-C-C-F} = 3,5 Hz), 108,38. **RMN ¹⁹F** (282 MHz, CDCl₃) δ: -55,94 (s, 3F).

Metil 5-(trifluormetil)-1H-pirrol-2-carboxilato (**25ga**): A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo: acetato de etila (0 - 10%) como eluente. Rendimento: 53 % (207 mg, 1,07 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf:** 95,2-96,8 °C.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 13,23 (s, 1H), 6,88 – 6,80 (m, 1H), 6,68 (ddd, *J* = 3,7, 2,5, 0,9 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 160,31, 120,64 (q, *J*_{C-F} = 267,4 Hz), 123,83 (q, *J*_{C-C-F} = 39,3 Hz), 120,64 (q, *J*_{C-F} = 267,4 Hz), 114,56, 111,17–110,14 (m), 51,71. **RMN ¹⁹F** (282 MHz, CDCl₃) δ: -58,44 (s, 3F).

Metil 3-(trifluormetil)-1H-pirrol-2-carboxilato (**25gb**): Regioisômero do Metil 5-(trifluormetil)-1H-pirrol-2-carboxilato. A purificação foi realizada utilizando éter de petróleo: acetato de etila (0 - 10%) como eluente. Rendimento: 7 % (28.9 mg, 0,15 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco. **Pf**: 89,6-91,2 °C. **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO) δ: 12,69 (s, 1H), 7,10 (t, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,53 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75 MHz, DMSO) δ: 159,03, 123,12 (q, *J*_{C-F} = 266,8 Hz), 122,75, 123,12 (q, *J*_{C-F} = 266,8 Hz), 117,40 (q, *J*_{C-C-F} = 37,0 Hz), 112,41 – 107,45 (m), 51,82. **RMN ¹⁹F** (282 MHz, DMSO) δ: -55,51 (s, 3F).

5.17 – Bioensaios de Inibição da AChE

5.17.1 - Imobilização da enzima AChE-ee

Com o auxílio de uma bomba seringa à uma vazão de 130µL/min, realizou-se o pré-tratamento do capilar para posterior imobilização da enzima AChE-ee. Para isso, eluiu-se pelo capilar uma solução de HCl (2,0 M, 2,0 mL), seguido de água deionizada (1,0 mL). O capilar foi, então, submetido ao aquecimento, à 95 °C em uma estufa, durante 1 hora. Em seguida, foi realizado um tratamento químico do capilar pela passagem de uma solução aquosa 10% de 3-aminopropiltriétoxissilano (APTS) (1,0 mL) seguido, novamente, pelo tratamento térmico por trinta minutos, à 95°C. O capilar foi deixado repousar por 24h à temperatura ambiente.

O procedimento de imobilização da enzima foi realizado posteriormente, utilizando uma bomba seringa para passagem das soluções previamente preparadas. A princípio, foi bombeado a solução de glutaraldeído 1% em solução de KH₂PO₄ (50 mM, pH 7,0) (1,5 mL) e em seguida, tampão KH₂PO₄ (50 mM, pH 7,0) (1,0mL) a temperatura ambiente. A seguir, a solução da enzima AChE-ee em tampão fosfato pH 7,0 (0,125 mg/mL) (1,0 mL) foi percolada no capilar por três vezes. Por fim, passou-se tampão tris (0,1M, pH 8,0) (1,5mL). O IMER-AChE-ee foi guardado com suas extremidades imersas no tampão TRIS-HCl a 4 °C.

5.17.2 – Avaliação da porcentagem de inibição dos compostos sintetizados

Todos os compostos (1,0 mg) foram diluídos em MeOH, grau HPLC ou H₂O Milli-Q^R. Para a triagem dos compostos (inibidores) foram preparadas três amostras referentes a cada um deles: a primeira amostra representando o branco analítico, tendo o composto a ser testado em meio aquoso; a segunda, referente a 100% de atividade, composta pelo substrato em solução de MeOH/H₂O; e a terceira amostra composta pelo composto dissolvido em MeOH, substrato e H₂O. Neste ensaio, o volume de substrato é o mesmo nas amostras de 100% de atividade e nas com inibidor, a fim de observar a influência do inibidor em determinada concentração de substrato. Nesses ensaios, a concentração de substrato foi mantida igual a 1,5-3,0 x K_M.

A princípio, a solução de substrato (1960 µM) foi preparada dissolvendo-se a ACh (1,07 mg) em H₂O (2,0 mL). Em seguida, uma alíquota de 25 µL dessa solução foi adicionada nas amostras de 100% de atividade e nas amostras de substrato com inibidor, de modo que a concentração do substrato no ensaio fosse igual a 490 µM. Além disso, nas amostras de substrato com inibidor, foram adicionadas alíquotas da solução de cada inibidor de modo que sua concentração final fosse 200 µM e a amostra tivesse ao todo 100 µL. As amostras de 100% de atividade foram preparadas trocando-se o volume de cada inibidor por MeOH, grau HPLC (amostras sem inibidor), e as amostras “branco” foram preparadas modificando-se o volume de substrato (25,0 µL) por H₂O (amostras sem substrato). As amostras foram colocadas no auto-injetor do equipamento na sequência: “branco”, 100% de atividade, e amostra com substrato com inibidor.

Para a avaliação do potencial enzimático dos compostos **17a-j**, **21a-c**, **22a-b**, **3a-e**, **4a-i**, **6a-d**, o biorreator foi conectado em um sistema CLAE acoplado a um espectrômetro de massas Esquire 6000 IT, equipado com uma fonte de ionização do tipo ESI, operando no modo positivo. As fases móveis do sistema cromatográfico foram tampão acetato de amônio 15mM, pH 8,0 (bomba A) e metanol 100% (bomba B), ambas na vazão de 0,05 mL/min. As corridas foram de 20 minutos. Nesses ensaios, o valor de K_M foi determinado como sendo 325 µM para o capilar de AChE-ee (0,125 mg mL⁻¹). A concentração do substrato durante a triagem desses compostos foi igual a 3 x K_M e a concentração do inibidor igual a 200 µM (vide Tabela 3.34).

O preparo das amostras dos compostos **20** e **24** foi feito de forma análoga ao descrito acima. Entretanto, esses ensaios foram realizados em um sistema cromatográfico de ultra eficiência Waters ACQUITY UPLC, acoplado a um espectrômetro de massa modelo Xevo TQ-MS, com ionização por eletrospray (ESI), operando no modo positivo. Devido a sensibilidade do instrumento, nova validação do método foi realizada por pesquisadores do laboratório de Síntese Orgânica e CLAE. Nesses ensaios, as fases móveis utilizadas foram tampão acetato de amônio 15mM, pH 5,0, (bomba A) e metanol 100% (bomba B), ambos à 0,05 mL/min.

O valor de K_M foi determinado como sendo 72 μM para o capilar de AchE-ee (0,125 mg mL⁻¹), a concentração de substrato fixada em 3 x K_M e a concentração do inibidor igual a 100 μM (vide Tabela 3.35).

Referências Bibliográficas

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ MINATI L.; EDGINTON T.; BRUZZONE, M. G.; GIACCONE G. “Current concepts in alzheimer’s disease: a multidisciplinary review.” *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.*, **24** (2): 95, 2009.

² SILVA T.; TEIXEIRA J.; REMIÃO F.; BORGES F. “Alzheimer’s disease, cholesterol, and statins: the junctions of important metabolic pathways.” *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**: 1110, 2013.

³ KUMAR, A.; SINGH, A.; EKAVALI “A review on Alzheimer’s disease pathophysiology and its management: an update.” *Pharmacol.Rep.*, **67**: 195, 2015.

⁴ LEÓN, R.; GARCIA, A. G. MARCO-CONTELLES, J. “Recent advances in the multitarget-directed ligands approach for the treatment of Alzheimer’s disease.” *Med. Res. Rev.*, **33** (1): 139, 2013.

⁵ IQBAL, K.; LIU, F.; GONG, C.-X.; GRUNDKE-IQBAL, I. “Tau in Alzheimer disease and related tauopathies.” *Curr. Alzheimer Res. Dec.*, **7** (8): 656, 2010.

⁶ GHOSH, A. K.; OSSWALD, H. L. “BACE1 (b-secretase) inhibitors for the treatment of Alzheimer’s disease.” *Chem. Soc. Rev.*, **43**: 6765, 2014.

⁷ SEVIGNY, J.; CHIAO, P.; BUSSIÈRE, T.; WEINREB, P.; WILLIAMS, L.; MAIER, M.; DUNSTAN, R.; SALLOWAY, S.; CHEN, T.; LING, Y.; O’GORMAN, J.; QIAN, F.; ARASTU, M.; LI, M.; CHOLLATE, S.; BRENNAN, M. S.; QUINTERO-MONZON, O.; SCANNEVIN, R. H.; ARNOLD, H. M.; ENGBER, T.; RHODES, K.; FERRERO, J.; HANG, Y.; MIKULSKIS, A.; GRIMM, J.; HOCK, C.; NITSCH, R. M.; SANDROCK, A. “The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer’s disease.” *Nature*, **537**: 50, 2016.

⁸ PENNINKILAMPI, R.; BROTHERS, H. M.; ESLICK G. D. “Safety and efficacy of anti-amyloid- β immunotherapy in Alzheimer’s disease: a systematic review and meta-analysis.” *Neuroimmune Pharmacol.* **12**: 194, 2017.

⁹ ANAND, P.; SINGH, B. “A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer’s disease.” *Arch. Pharm. Res.*, **36**: 375, 2013.

¹⁰ VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; FRAGA, C. A. M.; BAREIRO, E. J. “Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do mal de Alzheimer”. *Quím. Nova*, **27**: 655, 2004.

¹¹ SELKOE D. J. “Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer’s disease.” *Nature*, **399**: 23, 1999.

¹² ZHOU, P.; LI, Y.; FAN, Y.; WANG, Z.; CHOPRA, R.; OLLAND, A.; HUB, Y.; MAGOLDA, R. L.; PANGALOS, M.; REINHART, P.; TURNER, M. J.; BARD, J.; MALAMAS, M. S.; ROBICHAUD, A. J. “Pyridinyl aminohydantoinas as small molecule BACE1 inhibitors.” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**: 2326, 2010.

-
- ¹³ FARISS, M. W.; MUMAW, V., R.; WALTON, L. P. "Tetrahydroaminoacridine-induced apoptosis in rat hepatocytes." *Toxicol. In Vitro*, **10**: 383, 1996.
- ¹⁴ NORDBERG, A.; SVENSSON, A. L. "Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease: a comparison of tolerability and pharmacology." *Drug. Saf.*, **19**: 465, 1998.
- ¹⁵ GREENBLATT, H. M.; SILLMAN, I.; SUSSMAN, J. L. "Structural studies on vertebrate and invertebrate acetylcholinesterases and their complexes with functional ligands." *Drug. Dev. Res.*, **50**: 573, 2000.
- ¹⁶ AASETH, J.; ALEXANDER, J.; BJØRKLUND, G.; HESTAD, K.; DUSEK, P.; ROOS, P. M.; ALEHAGEN, U. "Treatment strategies in Alzheimer's disease: a review with focus on selenium supplementation." *Biometals*, **29**: 827, 2016.
- ¹⁷ HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J. "Natural products and derivatives affecting neurotransmission relevant to Alzheimer's and Parkinson's disease." *Neurosignals*, **14**: 6, 2005.
- ¹⁸ KANG, S. Y.; LEE, K. Y.; SUNG, S. H.; PARK, M. J.; KIM, Y. C. "Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships". *J. Nat. Prod.*, **64** (5): 683, 2001.
- ¹⁹ (a) GUTIÉRREZA, M.; MATUSA, M. F.; POBLETEA, T.; AMIGOA, J.; VALLEJOS, G.; ASTUDILLO, L. "Isoxazoles: synthesis, evaluation and bioinformatic design as acetylcholinesterase inhibitors." *J. Pharm. Pharmacol.*, **65**: 1796, 2013. (b) ASENSI-BERNARDI, L.; MARTÍN-BIOSCA, Y.; SAGRADO, SALVADOR; MEDINA-HERNÁNDEZ, M. J. "Electrokinetic chromatographic estimation of the enantioselective binding of nomifensine to human serum albumin and total plasma proteins." *Biomed. Chromatogr.*, **26**: 1357, 2012.
- ²⁰ PIAZZI, L.; CAVALLI, A.; COLIZZI, F.; BELLUTI, F.; BARTOLINI, M.; MANCINI, F.; RECANATINI, M.; ANDRISANO, V.; RAMPA, A. "Multi-target-directed coumarin derivatives: hAChE and BACE1 inhibitors as potential anti-Alzheimer compounds." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**: 423, 2008.
- ²¹ VANZOLINI, K. L.; VIEIRA, L. C. C.; CORREA, A. G.; CARDOSO, C. L.; CASS, Q. B. "Acetylcholinesterase immobilized capillary reactors-tandem mass spectrometry: an on-flow tool for ligand screening." *J. Med. Chem.* **56**: 2038, 2013.
- ²² CHEOL, K. Y.; EUN, L. G.; HUI, P. J. "New hydantoin derivative useful in composition for prevention and treatment of chronic inflammatory disorder, inflammatory pain, neuropathic pain, autoimmune disease or degenerative disease". KR2012086957-A, 2012.
- ²³ HAMILTON, G. S.; CATONVILLE, M. D. "Hydantoin derivative compounds, pharmaceutical compositions, and methods of using same". US 20020058685, 2002.

-
- ²⁴ PEJCHAL, V.; STEPANKOVA, S.; PADELKOVA, Z.; IMRAMOVSKY, A.; JAMPILEK, J. "1,3-substituted imidazolidine-2,4,5-triones: synthesis and inhibition of cholinergic enzymes." *Molecules*, **16**: 7565, 2011.
- ²⁵ KHANFAR, M. A.; ASAL, B. A.; MUDIT, M.; KADDOUMI, K.; SAYED, K.A. "The marine natural-derived inhibitors of glycogen synthase kinase-3 β phenylmethylene hydantoins: in vitro and in vivo activities and pharmacophore modeling". *Bioorg. Med. Chem.*, **17**: 6032, 2009.
- ²⁶ (a) SANGNOI, Y.; SAKULKEO, O.; YUENYONGSAWAD, S.; KANJANA-OPAS, A.; INGKANINAN, K.; PLUBRUKARN, A.; SUWANBORIRUX, K. "Acetylcholinesterase-inhibiting activity of pyrrole derivatives from a novel marine gliding bacterium, *Rapidithrix thailandica*." *Mar. Drugs.*, **6**: 578, 2008. (b) ATANASOVA, M.; STAVRAKOV, G.; PHILIPOVA, I.; ZHELEVA, D.; YORDANOV, N.; DOYTCHINOVA, IRINI "Galantamine derivatives with indole moiety: docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity." *Bioorg. Med. Chem.* **23**: 5382, 2015. (c) LI, J. L.; HUANG, L.; LIU, J.; SONGA, Y.; GAOC, J.; JUNG, J. H.; LIU, Y.; CHEN, G. "Acetylcholinesterase inhibitory dimeric indole derivatives from the marine actinomycetes *Rubrobacter radiotolerans*." *Fitoterapia*, **102**: 203, 2015.
- ²⁷ MUÑOZ-RUIZ, P.; RUBIO, L.; GARCÍA-PALOMERO, E.; DORRONSORO, I.; DEL MONTE-MILLÁN, M.; VALENZUELA, R.; USÁN, P.; DE AUSTRIA, C.; BARTOLINI, M.; ANDRISANO, V.; BIDON-CHANAL, A.; OROZCO, M.; LUQUE, F. J.; MEDINA, M.; MARTÍNEZ, A. "Design, synthesis, and biological evaluation of dual binding site acetylcholinesterase inhibitors: new disease-modifying agents for alzheimer's disease." *J. Med. Chem.*, **48**: 7223, 2005.
- ²⁸ GEISSLER, T.; BRANDT, W.; PORZEL, A.; SCHLENZIG, D.; KEHLEN, A.; WESSJOHANN, L.; ARNOLD, N. "Acetylcholinesterase inhibitors from the toadstool *Cortinarius infractus*." *Bioorg. Med. Chem.*, **18**: 2173, 2010.
- ²⁹ BAHARLOO, F.; MOSLEMIN, M. H.; NADRI, H.; ASADIPOUR, A.; MAHDAVI, M.; EMAMI, S.; LOGHMAN, F.; MOHEBAT, R.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A. "Benzofuran-derived benzylpyridinium bromides as potent acetylcholinesterase inhibitors." *Eur. J. Med. Chem.*, **93**: 196, 2015.
- ³⁰ NADRI, H.; PIRALI-HAMEDANI, M.; SHEKARCHI, M.; ABDOLLAHI, M.; SHEIBANI, V.; AMANLOU, M.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A. "Design, synthesis and anticholinesterase activity of a novel series of 1-benzyl-4-((6-alkoxy-3-oxobenzofuran-2(3H)-ylidene) methyl)pyridinium derivatives." *Bioorg. Med. Chem.*, **18**: 6360, 2010.
- ³¹ BOHN, P.; GOURAND, F.; PAPAMICAËL, C.; IBAZIZÈNE, M.; DHILLY, M.; GEMBUS, V.; ALIX, F.; TINTAS, M.; MARSAIS, F.; BARRÉ, L.; LEVACHER, V. "Dihydroquinoline carbamate derivatives as "bio-oxidizable" prodrugs for brain delivery of acetylcholinesterase inhibitors: [11c] radiosynthesis and biological evaluation." *ACS Chem. Neurosci.*, **6**: 737, 2015.
- ³² LIMA, L. M. "Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira." *Quim. Nova*, **30** (6): 1456, 2007.

-
- ³³ BAHIA, S. B. B. B.; REIS, W. J.; JARDIM, G. A. M.; SOUTO, F. T.; DE SIMONE, C. A.; GATTO, C. C.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; DE CASTRO, S. L.; CAVALCANTI, B. C.; PESSOA, C.; ARAUJO, M. H.; DA SILVA JÚNIOR, E. N. "Molecular hybridization as a powerful tool towards multitarget quinoidal systems: synthesis, trypanocidal and antitumor activities of naphthoquinone-based 5-iodo-1,4-disubstituted-, 1,4- and 1,5-disubstituted-1,2,3-triazoles." *Med. Chem. Commun.*, **7**: 1555, 2016.
- ³⁴ (a) BELLUTI, F.; ULIASSI, E.; VERONESI, G.; BERGAMINI, C.; KAISER, M.; BRUN, R.; VIOLA, A.; FATO, R.; MICHELS, P. A.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; CAVALLI, A.; BOLOGNESI, M. L. "Toward the development of dual-targeted glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase/trypanothione reductase inhibitors against *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*." *Chem. Med. Chem.*, **9**: 371, 2014. (b) PRATI, F.; BERGAMINI, C.; MOLINA, M. T.; FALCHI, F.; CAVALLI, A.; KAISER, M.; BRUN, R.; FATO, R.; BOLOGNESI, M. L. "2-Phenoxy-1,4-naphthoquinones: from a multitarget antitrypanosomal to a potential antitumor profile." *J. Med. Chem.*, **58**: 6422, 2015.
- ³⁵ ARAÚJO, C. R. M.; FILHO, C. A. L.; SANTOS, V. L. A., MAIA, G. L. A.; GONSALVES, A. A. "Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual *SciFinder®*." *Quim. Nova*, **38** (6): 868, 2015.
- ³⁶ DIAS, K. S. T.; VIEGAS JR, C. "Multi-target directed drugs: a modern approach for design of new drugs for the treatment of Alzheimer's disease." *Curr. Neuropharmacol.*, **12**: 239, 2014.
- ³⁷ JIANG, H.; WANG, X.; HUANG, L.; LUO, Z.; SU, T.; DING, K.; LI, X. "Benzenediol-berberine hybrids: multifunctional agents for Alzheimer's disease." *Bioorg. Med. Chem.*, **19**: 7228, 2011.
- ³⁸ RAHMAN, A.; ALI, M. T.; SHAWAN, M. M.; SARWAR, M. G.; KHAN M. A.; HALIM M. A. "Halogen-directed drug design for Alzheimer's disease: a combined density functional and molecular docking study." *Springerplus*, **5**: 1346, 2016.
- ³⁹ FILLER, R.; KOBAYASHI, Y.; YAGUPOLSKII, L. M. "Organofluorine compounds in medicinal chemistry & biomedical applications." Elsevier, Amsterdam, 1993.
- ⁴⁰ LISHCHYNSKYI, A.; NOVIKOV, M. A.; MARTIN, E.; ESCUDERO-ADÁN, E. C.; NOVÁK, P.; GRUSHIN, V. V. "Trifluoromethylation of aryl and heteroaryl halides with fluoroform-derived CuCF_3 : scope, limitations, and mechanistic features." *J. Org. Chem.*, **78**: 11126, 2013.
- ⁴¹ STOUT, E. P.; CHOI, M. Y.; CASTRO, J. E.; MOLINSKI, T. F. "Potent fluorinated agelastatin analogues for chronic lymphocytic leukemia: design, synthesis, and pharmacokinetic studies." *J. Med. Chem.*, **57**: 5085, 2014.
- ⁴² WHITE, R. E. "High-throughput screening in drug metabolism and pharmacokinetic support of drug discovery." *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **40**: 133, 2000.

-
- ⁴³ ELLMANN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity". *Biochem. Pharmacol.*, **7**: 88, 1961.
- ⁴⁴ RHEE, K.; van RIJN, R. M.; VERPOORTE, R. "Qualitative determination of false-positive effects in the acetylcholinesterase assay using thin layer chromatography". *Phytochem. Anal.*, **14**: 127, 2003.
- ⁴⁵ MASTON, A.; KISSLING, J.; HOSTETTMANN, K.; "A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants". *Phytochem. Anal.*, **13**: 51, 2002.
- ⁴⁶ HAGE, D. S.; ANGUIZOLA, J. A.; BI, C.; LI, R.; MATSUDA, R.; PAPASTAVROS, E.; PFAUNMILLER, E.; VARGAS, J.; ZHENG, X. "Pharmaceutical and biomedical applications of affinity chromatography: recent trends and developments". *J. Biomed. Anal.*, **69**: 93, 2012.
- ⁴⁷ CARDOSO, C. L.; MORAES, M. C.; CASS, Q. B. "Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas". *Quim. Nova*, **32**: 175-187, 2009.
- ⁴⁸ (a) VANZOLINI, K. L.; JIANG, Z.; ZHANG, X.; VIEIRA, L. C. C.; CORRÊA, A. G.; CARDOSO, C. L.; CASS, Q. B.; MOADDEL, R. "Acetylcholinesterase immobilized capillary reactors coupled to protein coated magnetic beads: a new tool for plant extract ligand screening." *Talanta* **116**: 647, 2013. (b) SANGI, D. P.; MONTEIRO, J. L.; VANZOLINI, K. L.; CASS, Q. B.; PAIXÃO, M. W.; CORRÊA, A. G. "Microwave-assisted synthesis of *N*-heterocycles and their evaluation using an acetylcholinesterase immobilized capillary reactor." *J. Braz. Chem. Soc.*, **25**: 887, 2014.
- ⁴⁹ FEDOROV, A. YU.; NYUCHEV, A. V.; BELETSKAYA, I. P. "Catalytic methods of creation and functionalization of the coumarin skeleton." *Chem. Heterocycl. Compd.*, **48** (1): 166, 2012.
- ⁵⁰ BANTICK, J. R.; SUSCHITZKY, J. L.; "Synthesis of 2-aminochromones. Studies on the nucleophilic displacement of sulphanyl and sulphonyl groups in the 2-position of 5,8-dimethoxychromone." *J. Heterocycl. Chem.*, **18**: 679, 1981.
- ⁵¹ VOLMAJER, J.; TOPLAK, R.; LEBAN, I.; LE MARECHAL, A. M. "Synthesis of new iminocoumarins and their transformations into *N*-chloro and hydrazono compounds." *Tetrahedron*, **61**: 7012, 2005.
- ⁵² GARAZD, M. M.; GARAZD, Y. L.; KHILYA, V. P. "Neoflavones. 2. Methods for synthesizing and modifying 4-aryl coumarins." *Chem. Nat. Compd.*, **41**: 245, 2005.
- ⁵³ ZHANG, G.; ZHANG, Y.; YAN, J.; CHEN, R.; WAN, S.; MA, Y.; WANG, R. "One-pot enantioselective synthesis of functionalized pyranocoumarins and 2-amino-4h-chromenes: discovery of a type of potent antibacterial agent." *J. Org. Chem.*, **77**: 878, 2012.

-
- ⁵⁴ AHADI, S.; ZOLGHADR, M.; KHAVASI, H. R.; BAZGIR, A. "A diastereoselective synthesis of pyrano fused coumarins via organocatalytic three-component reaction." *Org. Biomolec. Chem.* **11**: 279, 2013.
- ⁵⁵ CRAVOTTO, G.; NANO, G. M.; TAGLIAPIETRA, S. "Reaction of 4-hydroxycoumarin with alpha, beta-unsaturated iminium salts: a straightforward, regioselective entry to pyranocoumarin derivatives". *Synthesis*, **1**: 49, 2001.
- ⁵⁶ HSUNG, R. P.; KURDYUMOV, A.V.; SYDORENKO N. "A formal [3+3] cycloaddition approach to natural-product synthesis", *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**: 23, 2005.
- ⁵⁷ LIST, B. "Asymmetric organocatalysis. In *Topics in Current Chemistry*; Springer: Heidelberg, Germany, **291**: 2009.
- ⁵⁸ NIELSEN, M.; WORGULL, D.; ZWEIFEL, T.; GSCHWEND, B.; BERTELSEN, S.; JØRGENSEN, K. A. "Mechanisms in aminocatalysis." *Chem. Commun.*, **47**: 632, 2011.
- ⁵⁹ HALLAND, N.; HANSEN, T.; JØRGENSEN, K. A. "Organocatalytic asymmetric Michael reaction of cyclic 1,3-dicarbonyl compounds and α , β -unsaturated ketones—a highly atom-economic catalytic one-step formation of optically active warfarin anticoagulant." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**: 4955, 2003.
- ⁶⁰ (a) FLORES-FERRÁNDIZ, J.; STIVEN, A.; SOTORRÍOS, L.; GÓMEZ-BENGOA, E.; CHINCHILLA, R. "Enantioselective addition of aryl ketones and acetone to nitroalkenes organocatalyzed by carbamate-monoprotected cyclohexa-1,2-diamines." *Tetrahedron: Asymmetry*, **26**: 970, 2015. (b) NAKASHIMA, K.; KAWADA, M.; HIRASHIMA, S.; KATO, M.; KOSEKI, Y.; MIURA, T. "Asymmetric conjugate addition of ketones to maleimides using diaminomethyleneindenedione organocatalyst." *Synlett*, **26**: 1248, 2015. (c) YOSHIDA, M.; UKIGAI, H.; SHIBATOMI, K.; HARA, S. "Organocatalytic asymmetric Michael addition of α -branched aldehydes to vinyl ketones: synthesis of 5-ketoaldehydes possessing a stereo-controlled all-carbon quaternary stereogenic center." *Tetrahedron Lett.*, **56** (25): 3890, 2015. (d) ZHANG, L.; FU, N.; LUO, S. "Pushing the limits of aminocatalysis: enantioselective transformations of α -branched β -ketocarboxyls and vinyl ketones by chiral primary amines." *Acc. Chem. Res.*, **48**: 986, 2015.
- ⁶¹ RUEPING, M.; MERINO, E.; SUGIONO, E. "Enantioselective organocatalytic reactions of 4-hydroxycoumarin and 4-hydroxypyronone with α , β -unsaturated aldehydes – an efficient michael addition-acetalization cascade to chromenones, quinolinones and pyranones". *Adv. Synth. Catal.*, **350** (13): 2127, 2008.
- ⁶² REN, C.; WEI, F.; XUAN, Q.; WANG, D.; LIU, L. "Organocatalytic enantioselective reaction of cyclopent-2-enone-derived Morita–Baylis–Hillman alcohols with 4-hydroxycoumarins." *Adv. Synth. Catal.*, **358**: 132, 2016.
- ⁶³ WARE, E. "The Chemistry of the hydantoins." *Chem. Rev.* **1950**, **46**, 403.

-
- ⁶⁴ DE OLIVEIRA, S. M.; DA SILVA, J. B. P. "Estrutura, reatividade e propriedades biológicas de hidantoínas." *Quim. Nova*, **31**: 614, 2008.
- ⁶⁵ MUDIT, M.; KHANFAR, M.; MURALIDHARAN, A.; THOMAS, S.; SHAH, G.V.; SOEST, R.W.M.; SAYED, K.A., "Discovery, design, and synthesis of anti-metastatic lead phenylmethylene hydantoins inspired by marine natural products". *Bioorg. Med. Chem.*, **17**: 1731, 2009.
- ⁶⁶ CACHET, N.; GENTA-JOUVE, G.; REGALADO, E.L.; MOKRINI, R.; AMADE, P.; CULIOLI, G.; THOMAS, O.P., "Parazoanthines A–E, hydantoin alkaloids from the mediterranean sea anemone *Parazoanthus axinellae*". *J. Nat. Prod.*, **72**: 1612, 2009.
- ⁶⁷ KLEINPETER, E.; HEYENREICH, M.; KALDER, L.; KOCH, A.; HENNING, D.; KEMPTER, G.; BENASSI, R.; TADDEI, F. "NMR spectroscopic and theoretical structural analysis of 5,5-disubstituted hydantoins in solution." *J. Mol. Struct.*, **403**: 111, 1997.
- ⁶⁸ (a) ÖSZ, E.; SZILÁGYI, L.; MARTON, J. "Structural analysis of hydantoins and 2-thiohydantoins in solution using ¹³C,¹H NMR coupling constants." *J. Mol. Struct.*, **442**: 267, 1998. (b) FARIS, W. M.; SAFI, Z. S. "Theoretical investigation of tautomerism stability of hydantoin in the gas phase and in the solution." *Orient. J. Chem.*, **30** (3): 1045, 2014.
- ⁶⁹ (a) BERGS, H. "Verfahren zur darstellung von hydantoinen." German Pat., 566,094, 1932. (b) BUCHERER, H. T.; FISCHBECK, H. J. "Synthese von Hydantoinen." *Prakt. Chem.*, **140**: 69, 1934.
- ⁷⁰ OLIMPIERI, F.; BELLUCCI, M. C.; MARCELLIA, T.; VOLONTERIO, A. "Regioselective multicomponent sequential synthesis of hydantoins." *Org. Biomol. Chem.*, **10**: 9538, 2012.
- ⁷¹ ZHAO, B.; DU, H.; SHI, Y. "A Cu(I)-catalyzed C-H α -amination of esters. Direct synthesis of hydantoins." *J. Am. Chem. Soc.*, **130**: 7220, 2008.
- ⁷² COLACINO, E.; LAMATY, F.; MARTINEZ, J.; PARROT, I. "Microwave-assisted solid-phase synthesis of hydantoin derivatives." *Tetrahedron Lett.*, **48**: 5317, 2007.
- ⁷³ ZHANG, W.; LU, Y. M.; CHEN, C. C-T.; CURRAN, D. P.; GEIB, S. "Fluorous synthesis of hydantoin-, piperazinedione-, and benzodiazepinedione-fused tricyclic and tetracyclic ring systems." *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**: 2055, 2006.
- ⁷⁴ KONNERT, L.; RENEAUD, B.; DE FIGUEIREDO, R. M.; CAMPAGNE, J.-M.; LAMATY, F.; MARTINEZ, J.; COLACINO, E. "Mechanochemical preparation of hydantoins from amino esters: application to the synthesis of the antiepileptic drug phenytoin." *J. Org. Chem.*, **79**: 10132, 2014.
- ⁷⁵ MOLONEY, G. P.; MARTIN, G. R.; MATHEWS, N.; MILNE, A.; HOBBS, H.; DOSWORTH, S.; SANG, P. Y.; KNIGHT, C.; WILLIAMS, M.; MAXWELL, M.; GLEN, R. C. "Synthesis and serotonergic activity of substituted 2,*n*-benzylcarboxamido-5-(2-ethyl-1-dioximidazolidinyl)-*N,N*-dimethyltrypt- amine derivatives: novel antagonists for the vascular 5-ht_{1b}-like receptor." *J. Med. Chem.*, **42**: 2504, 1999.

-
- ⁷⁶ SMIT, B. M.; PAVLOVIC, R. Z. "Three-step synthetic pathway to fused bicyclic hydantoins involving a selenocyclization step." *Tetrahedron*, **71**: 1101, 2015.
- ⁷⁷ CHEUNG, L. L. W.; HE, Z.; DECKER, S. M.; YUDIN, A. K. "Skeletal fusion of small heterocycles with amphoteric molecules." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**: 11798, 2011.
- ⁷⁸ MACHADO, A. H. L.; PANDOLI, O.; MIRANDA, L. S. M.; DE SOUZA, R. O. M. A. "Micro reatores: novas oportunidades em síntese química." *Rev. Virtual Quim.*, **6** (4): 1076, 2014.
- ⁷⁹ WU, S.-W.; LIU, J.-L.; LIU, F. "A microwave-assisted, metal-free direct decarboxylative elimination of arylacetic acids in the presence of PIFA as oxidant readily provides alkenes in good yields." *Org. Lett.*, **18**: 1, 2016.
- ⁸⁰ HERMANN, G. N.; JUNG, C. L.; BOLM, C. "Mechanochemical indole synthesis by rhodiumcatalysed oxidative coupling of acetanilides and alkynes under solventless conditions in a ball mill." *Green Chem.*, **19**: 2520, 2017.
- ⁸¹ WEGNER, J.; CEYLAN, S.; KIRSCHNING, A. "Flow chemistry – a key enabling technology for (multistep) organic synthesis." *Adv. Synth. Catal.*, **354**: 17, 2012.
- ⁸² (a) HARTMAN, R. L.; MCMULLEN, J. P.; JENSEN, K. F. "Deciding whether to go with the flow: evaluating the merits of flow reactors for synthesis." *Angew. Chem. Int. Ed.* **50** (33): 7502, 2011. (b) HESSEL, V.; KRALISCH, D.; KOCKMANN, N.; NOEL, T.; WANG, Q. "Novel process windows for enabling, accelerating, and uplifting flow chemistry." *ChemSusChem*, **6** (5): 746, 2013.
- ⁸³ PLUTSCHACK, M. B.; PIEBER, B.; GILMORE, K.; SEEBERGER, P. H. "The Hitchhiker's guide to flow chemistry." DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00183.
- ⁸⁴ BRITTON, J.; RASTON, C. L. "Multi-step continuous-flow synthesis." *Chem. Soc. Rev.*, **46**: 1250, 2017.
- ⁸⁵ BRZOZOWSKI, M.; O'BRIEN, M.; LEY, S. V.; POLYZOS, A. "Flow chemistry: intelligent processing of gas-liquid transformations using a tube-in-tube reactor." *Acc. Chem. Res.*, **48**: 349, 2015.
- ⁸⁶ JENSEN, K. F.; REIZMAN, B. J.; NEWMAN, S. G. "Tools for chemical synthesis in microsystems." *Lab Chip*, **14**: 3206, 2014.
- ⁸⁷ SAHOO, H. R.; KRALJ, J. G.; JENSEN, K. F. "Multistep continuous-flow microchemical synthesis involving multiple reactions and separations." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**: 5704, 2007.
- ⁸⁸ FROST, C. G.; MUTTON, L. "Heterogeneous catalytic synthesis using microreactor technology." *Green Chem.*, **12**: 1687, 2010.
- ⁸⁹ CANTILLO, D.; KAPPE, C. O. "Immobilized transition metals as catalysts for cross-couplings in continuous flow - a critical assessment of the reaction mechanism and metal leaching." *ChemCatChem*, **6**: 3286, 2014.

-
- ⁹⁰ GRECO, R.; GOESSLER, W.; CANTILLO, D.; KAPPE, C. O. "Benchmarking immobilized di- and triarylphosphine palladium catalysts for continuous-flow cross-coupling reactions: efficiency, durability, and metal leaching studies. *ACS Catal.*, **5**: 1303, 2015.
- ⁹¹ GLASNOV, T. N.; KAPPE, C. O. "The microwave-to-flow paradigm: translating high-temperature batch microwave chemistry to scalable continuous-flow processes." *Chem. Eur. J.*, **17**: 11956, 2011.
- ⁹² BEDORE, M. W.; ZABORENKO, N.; JENSEN, K. F.; JAMISON, T. F. "Aminolysis of epoxides in a microreactor system: a continuous flow approach to β -amino alcohols. *Org. Process Res. Dev.*, **14**: 432, 2010.
- ⁹³ RAZZAQ, T.; KAPPE, C. O. "Continuous flow organic synthesis under high-temperature/pressure conditions." *Chem. Asian J.*, **5**: 1274, 2010.
- ⁹⁴ HESSEL, V.; CORTESE, B.; DE CROON, M. H. J. M., "Novel process windows – concept, proposition and evaluation methodology, and intensified superheated processing." *Chem. Eng. Sci.*, **66**: 1426, 2011.
- ⁹⁵ VAN WAES, F. E. A.; SEGHERS, S.; DERMAUT, W.; CAPPUYNS, B.; STEVENS, C. V. "Efficient continuous-flow bromination of methylsulfones and methanesulfonates and continuous synthesis of hypobromite." *J. Flow Chem.*, **4**: 118, 2014.
- ⁹⁶ FUCHS, M.; GOESSLER, W.; PILGER, C.; KAPPE, C. O. "Mechanistic Insights into copper(i)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions using continuous flow conditions." *Adv. Synth. Catal.*, **352**: 323, 2010.
- ⁹⁷ ZAKRZEWSKI, J.; SMALLEY, A. P.; KABESHOV, M. A.; GAUNT, M. J.; LAPKIN, A. A. "Continuous-flow synthesis and derivatization of aziridines through palladium-catalyzed C(sp³) C-H activation." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**: 8878, 2016
- ⁹⁸ BAUMANN, M.; BAXENDALE, I. R. "A continuous flow synthesis and derivatization of 1,2,4-thiadiazoles." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, doi: 10.1016/j.bmc.2017.01.022, 2017.
- ⁹⁹ DALLINGER, D.; PINHO, V. D.; GUTMANN, B.; KAPPE, C. O. "Laboratory-Scale Membrane Reactor for the Generation of Anhydrous Diazomethane." *J. Org. Chem.*, **81** (14): 5814, 2016.
- ¹⁰⁰ GLOTZ, G.; GUTMANN, B.; HANSELMANN, P.; KULESZA, A.; ROBERGE, D.; KAPPE, C. O. "Continuous flow synthesis of indoles by Pd-catalyzed deoxygenation of 2-nitrostilbenes with carbon monoxide." *RSC Adv.*, **7**: 10469, 2017.
- ¹⁰¹ BAUMANN, M.; BAXENDALE, I. R. "The synthesis of active pharmaceutical ingredients (APIs) using continuous flow chemistry." *Beilstein J. Org. Chem.*, **11**: 1194, 2015.

-
- ¹⁰² PORTA, R.; BENAGLIA, M.; COCCIA, F.; ROSSI, S.; PUGLISI, A. "Enantioselective organocatalysis in microreactors: continuous flow synthesis of a (s)-Pregabalin precursor and (s)-Warfarin." *Symmetry*, **7**: 1395, 2015.
- ¹⁰³ ANDRADE, L. H.; KROUTIL, W.; JAMISON, T. F. "Continuous flow synthesis of chiral amines in organic solvents: immobilization of *E. coli* cells containing both ω -transaminase and PLP." *Org. Lett.*, **16**: 6092, 2014.
- ¹⁰⁴ NAGIB, D. A.; MACMILLAN, D. W. C. "Trifluoromethylation of arenes and heteroarenes by means of photoredox catalysis." *Nature*, **480**: 224, 2011.
- ¹⁰⁵ MUNIRATHINAM, R.; HUSKENS, J.; VERBOOM, W. "Supported catalysis in continuous-flow microreactors." *Adv. Synth. Catal.*, **357** (6): 1093, 2015.
- ¹⁰⁶ FABRY, D. C.; HO, Y. A.; ZAPF, R.; TREMEL, W.; PANTHÖFER, M.; RUEPING, M.; REHM, T. H. "Blue light mediated C–H arylation of heteroarenes using TiO₂ as an immobilized photocatalyst in a continuous-flow microreactor." *Green Chem.*, **19**: 1911, 2017.
- ¹⁰⁷ ANASTAS, P.; EGHBALI, N. "Green chemistry: principles and practice." *Chem. Soc. Rev.*, **39**: 301, 2010.
- ¹⁰⁸ RUIZ-MERCADO, G. J.; CARVALHO, A.; CABEZAS, H. "Using green chemistry and engineering principles to design, assess, and retrofit chemical processes for sustainability." *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **4** (11): 6208, 2016
- ¹⁰⁹ LUMMISS, J. A. M.; MORSE, P. D.; BEINGESSNER, R. L.; JAMISON, T. F. "Towards more efficient, greener syntheses through flow chemistry." *Chem. Rec.*, **17**: 1, 2017.
- ¹¹⁰ GUTMANN, B.; CANTILLO, D.; KAPPE, C. O. "Continuous-flow technology - a tool for the safe manufacturing of active pharmaceutical ingredients." *Angew. Chem. Int.Ed.*, **54**: 6688, 2015.
- ¹¹¹ MCGONAGLE, F. I.; SNEDDON, H. F.; JAMIESON, C.; WATSON, A. J. B. "Molar efficiency: a useful metric to gauge relative reaction efficiency in discovery medicinal chemistry." *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2**: 523, 2014.
- ¹¹² FANELLI, F.; PARISI, G.; DEGENNARO, L.; LUISI, R. "Contribution of microreactor technology and flow chemistry to the development of green and sustainable synthesis." *Beilstein J. Org. Chem.*, **13**: 520, 2017.
- ¹¹³ BAXENDALE, I. R.; BRAATZ, R. D.; HODNETT, B. K.; JENSEN, K. F.; JOHNSON, M. D.; SHARRATT, P.; SHERLOCK, J.-P.; FLORENCE, A. J. "Achieving continuous manufacturing: technologies and approaches for synthesis, workup, and isolation of drug substance." *J. Pharm. Sci.*, **104**: 781, 2015.
- ¹¹⁴ MASCIA, S.; HEIDER, P. L.; ZHANG, H.; LAKERVELD, R.; BENYAHIA, B.; BARTON, P. I.; BRAATZ, R. D.; COONEY, C. L.; EVANS, J. M. B.; JAMISON, T. F.; JENSEN, K. F.; MYERSON, A. S.; TROUT, B. L. "End-to-end continuous

manufacturing of pharmaceuticals: integrated synthesis, purification, and final dosage formation." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**: 1, 2013.

¹¹⁵ AMBRE, P. K.; PISSURLENKAR R. R. S.; WAVHALE R. D.; SHAIKH, M. S.; KHEDKAR, V. M.; WAN, B.; FRANZBLAU S. G.; COUTINHO, E. C. "Design, synthesis, and evaluation of 4-(substituted)phenyl-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-chromino[4,3-d]pyrimidin-5-one and 4-(substituted)phenyl-3,4-dihydro-1H-chromino[4,3-d]pyrimidine-2,5-dione analogs as antitubercular agents." *Med. Chem. Res.*, **23**: 2564, 2014.

¹¹⁶ (a) GAO, W.; HOU, W.; ZHENG, M.; TANG, L. "Clean and convenient one-pot synthesis of 4-hydroxycoumarin and 4-hydroxy-2-quinolinone derivatives". *Synth. Commun.*, **40**: 732, 2010. (b) WANG, Z.-C.; QIN, Y.-J.; WANG, P.-F.; YANG, Y.-A.; WEN, Q.; ZHANG, X.; QIU, H.-Y.; DUAN, Y.-T.; WANG, Y.-T.; SANG, Y.-L.; ZHU, H.-L. "Sulfonamides containing coumarin moieties selectively and potently inhibit carbonic anhydrases II and IX: design, synthesis, inhibitory activity and 3D-QSAR analysis." *Eur. J. Med. Chem.*, **66**: 1, 2013. (c) SINGLA, S.; PIPLANI, P. "Coumarin derivatives as potential inhibitors of acetylcholinesterase: synthesis, molecular docking and biological studies." *Bioorg. Med. Chem.*, **24**: 4587, 2016.

¹¹⁷ (a) RAO, M. L. N.; KUMAR, A. "Pd-catalyzed chemo-selective mono-arylations and bis-arylations of functionalized 4-chlorocoumarins with triarylbismuths as threefold arylating reagents." *Tetrahedron*, **70**: 6995, 2014. (b) ZHANG, M.-Z.; ZHANG, R.-R.; WANG, J.-Q.; YU, X.; ZANG, Y.-L.; WANG, Q.-Q.; ZANG, W.-H. "Microwave-assisted synthesis and antifungal activity of novel fused Osthole derivatives." *Eur. J. Med. Chem.*, **124**: 10, 2016. (c) CAO, D.; LIU, Y.; YAN, W.; WANG, C.; BAI, P.; WANG, T.; TANG, M.; WANG, X.; YANG, Z.; MA, B.; MA, L.; LEI, L.; WANG, F.; XU, B.; ZHOU, Y.; YANG, T.; CHEN, L. "Design, synthesis, and evaluation of in vitro and in vivo anticancer activity of 4-substituted coumarins: a novel class of potent tubulin polymerization inhibitors." *J. Med. Chem.*, **59**: 5721, 2016.

¹¹⁸ ZHAO, P.; WANG, L.; ZHU, X.; HUANG, X.; ZHAN, C.; WU, J.; YANG, G. "Subnanomolar inhibitor of cytochrome bc1 complex designed by optimizing interaction with conformationally flexible residues". *J. Am. Chem. Soc.*, **132**: 185, 2010.

¹¹⁹ DEOBALD, A. M.; CORRÊA, A. G.; RIVERA, D. G.; PAIXÃO, M. W. "Organocatalytic asymmetric epoxidation and tandem epoxidation/Passerini reaction under eco-friendly reaction conditions". *Org. Biomol. Chem.*, **10**: 7681, 2012.

¹²⁰ FEU, K. S.; TORRE, A. F.; SILVA, S.; JR, M. A. F. M.; CORRÊA, A. G.; PAIXÃO, M. W. "Polyethylene glycol (PEG) as a reusable solvent medium for an asymmetric organocatalytic Michael addition. Application to the synthesis of bioactive compounds". *Green Chem.*, **16**: 3169, 2014.

¹²¹ SIBI, M. P.; MNYEM, S. "Enantioselective conjugate additions". *Tetrahedron*, **56**: 8033, 2000.

-
- ¹²² FRANKE, P. T.; RICHTER, B.; JØRGENSEN, K. A. "Organocatalytic asymmetric synthesis of functionalized 3,4-dihydropyran derivatives". *Chem. Eur. J.*, **14** (21): 6317, 2008.
- ¹²³ HONG L.; SUN, W.; YANG, D.; LI, G.; WANG, R. "Additive effects on asymmetric catalysis." *Chem. Rev.*, **116**: 4006, 2016.
- ¹²⁴ STADLER, A.; KAPPE, C. O. "Microwave-mediated Biginelli reactions revisited. On the nature of rate and yield enhancements." *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **2**: 1363, 2000.
- ¹²⁵ (a) KUHNERT, N. "Microwave-assisted reactions in organic synthesis—are there any nonthermal microwave effects?" *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**: 1863, 2002. (b) STRAUSS, C. R. "Microwave-assisted reactions in organic synthesis—are there any nonthermal microwave effects? Response to the highlight by N. Kuhnert." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**: 3589, 2002. (c) KAPPE, C. O. "Controlled microwave heating in modern organic synthesis." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**: 6250, 2004. (d) KAPPE, C. O.; PIEBER, B.; DALLINGER, D. "Microwave effects in organic synthesis: myth or reality?" *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**: 1088, 2013. (e) DUDLEY, G. B.; STIEGMAN, A. E.; ROSANA, M. R. "Correspondence on microwave effects in organic synthesis." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**: 7918, 2013. (f) KAPPE, C. O. "Reply to the correspondence on microwave effects in organic synthesis." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**: 7924, 2013. (g) HERRERO, M. A.; KREMSNER, J. M.; KAPPE, C. O. "Nonthermal microwave effects revisited: on the importance of internal temperature monitoring and agitation in microwave chemistry." *J. Org. Chem.*, **73**: 36, 2008. (h) KAPPE, C. O. "Unraveling the mysteries of microwave chemistry using silicon carbide reactor technology." *Acc. Chem. Res.*, **46** (7): 1579, 2013.
- ¹²⁶ (a) KURFURSTOVA, J.; HAJEK, M. "Microwave-induced catalytic transformation of 2-tert-butylphenol at low temperatures". *Res. Chem. Intermed.*, **30** (6): 673, 2004. (b) SINGH, B. K.; APPUKUTTAN, P.; STIJN, C.; PARMAR, V. S.; EYCKEN, E. "Copper (II)-mediated cross-coupling of arylboronic acids and 2(1*h*)-pyrazinones facilitated by microwave irradiation with simultaneous cooling". *Org. Lett.*, **8** (9): 1863, 2006. (c) SINGH, B. K.; MEHTA, V. P.; PARMAR, V. S.; DER EYCKEN, E. V. "Palladium-catalyzed copper(I)-mediated cross-coupling of arylboronic acids and 2(1*H*)-pyrazinones facilitated by microwave irradiation with simultaneous cooling." *Org. Biomol. Chem.*, **5**: 2962, 2007. (d) BASSYOUNI, F. A.; ABU-BAKR, S. M.; REHIM, M. A. "Evolution of microwave irradiation and its application in green chemistry and biosciences." *Res Chem Intermed*, **38**: 283, 2012. (e) Zhao, H.; Shen, K. "Microwave-induced inactivation of DNA-based hybrid catalyst in asymmetric catalysis." *Int. J. Biol. Macromolec*, **84**: 367, 2016.
- ¹²⁷ ZHUANG, Q.; ZHOU, D.; TU, S.; LI, C.; CAO, L.; SHAO, Q. "A highly efficient microwave-assisted synthesis of chromeno-[3,4-*b*][4,7] phenanthroline derivatives through multicomponent reactions in water". *J. Heterocyclic Chem.*, **45** (3): 831, 2008.

-
- ¹²⁸ CHEN, Z.; BI, J.; SU, W. "Synthesis and antitumor activity of novel coumarin derivatives via a three-component reaction in water". *Chin. J. Chem.*, **31** (4): 507, 2013.
- ¹²⁹ DAMAVANDI, S. "Novel approach for the synthesis of 13-(aryl)-3,6,12,13-tetrahydrochromeno[4,3-*b*]pyrazolo[4,3-*f*]quinolin-12-one compounds" *J. Chem. Pharm. Res.*, **3** (6): 1163, 2011.
- ¹³⁰ SHI, F.; ZHANG, S.; WU, S.; GAO, Y.; TU, S. "A diversity-oriented synthesis of pyrazolo[4,3-*f*]quinoline derivatives with potential bioactivities via microwave-assisted multi-component reactions". *Mol. Divers.*, **15** (2): 497, 2011.
- ¹³¹ KAÏM, L.; GRIMAUND, L.; OBLE, J. "Phenol Ugi–Smiles systems: strategies for the multicomponent *n*-arylation of primary amines with isocyanides, aldehydes, and phenols" *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44** (48): 7961, 2005.
- ¹³² KAÏM, L.; GIZOLME, M.; GRIMAUD, L. "O-arylate Passerini reactions". *Org. Lett.*, **8** (22): 1631, 2002.
- ¹³³ CHÉRON, N.; RAMOZZI, R.; KAÏM, L.; GRIMAUD, L.; FLEURAT-LESSARD, P. "Challenging 50 years of established views on ugi reaction: a theoretical approach". *J. Org. Chem.*, **77** (3): 1361, 2012.
- ¹³⁴ CHÉRON, N.; RAMOZZI, R.; KAÏM, L.; GRIMAUD, L. "Substituent effects in Ugi–Smiles reactions". *J. Phys. Chem. A*, **117** (33): 8035, 2013.
- ¹³⁵ (a) KAÏM, L.; GIZOLME, M.; GRIMAUND, L.; OBLE, J. "Smiles rearrangements in Ugi- and Passerini-type couplings: New multicomponent access to *o*- and *n*-arylamides". *J. Org. Chem.*, **72** (11): 4169, 2007. (b) YAN, Y.-M.; RAO, Y.; DING, M.-W. "One-pot synthesis of multisubstituted benzimidazoles via sequential Ugi and catalytic aza-wittig reaction starting from 2-aminobenzoyl azides." *J. Org. Chem.*, **81** (3): 1263, 2016. (c) SEIXAS, R. S. G. R.; RIBEIRO, G. C.; GUIEU, S.; SILVA, A. M. S. "Sequential multicomponent synthesis of highly functionalized pyridin-2(1 H)-one derivatives." *ChemistrySelect*, **2**: 318, 2016.
- ¹³⁶ ECHEMENDÍA, R.; DE LA TORRE, A. F.; MONTEIRO, J. L.; PILA, M.; CORRÊA, A. G.; WESTERMANN, B.; RIVERA, D. G.; PAIXÃO, M. W. "Highly Stereoselective Synthesis of Natural-Product-Like Hybrids by an Organocatalytic/Multicomponent Reaction Sequence." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**: 7621, 2015.
- ¹³⁷ HILI, R.; YUDIN, A. K. "Amphoteric amino aldehydes re-route the aza-Michael reaction". *J. Am. Chem. Soc.*, **131**: 6404, 2009.
- ¹³⁸ HILI, R.; YUDIN, A. K. "Readily available unprotected amino aldehydes." *J. Am. Chem. Soc.*, **128** (46): 14772, 2006.
- ¹³⁹ RIGHI, G.; PIETRANTONIO, S.; BONINI, C. "Stereocontrolled 'one pot' organometallic addition–ring opening reaction of α,β -aziridine aldehydes. A new entry to syn 1,2-amino alcohols." *Tetrahedron*, **57**: 10039, 2001.

-
- ¹⁴⁰ CUI, Y.; HE, C. "Efficient aziridination of olefins catalyzed by a unique disilver (I) compound." *J. Am. Chem. Soc.*, **125**: 16202, 2003.
- ¹⁴¹ VESELY, J.; IBRAHEM, I.; ZHAO, G.; RIOS, R.; CORDOVA, A. "Organocatalytic enantioselective aziridination of α,β -unsaturated aldehydes." *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**: 778, 2007.
- ¹⁴² ASSEM, N.; HILI, R.; HE, Z.; KASAHARA, T.; INMAN, B. L.; DECKER, S.; YUDIN, A. K. "Role of reversible dimerization in reactions of amphoteric aziridine aldehydes." *J. Org. Chem.*, **77**: 5613, 2012.
- ¹⁴³ ARAI, H.; SUGAYA, N.; SASAKI, N.; MAKINO, K.; LECTARD, S.; HAMADA, Y. "Enantioselective aziridination reaction of α,β -unsaturated aldehydes using an organocatalyst and tert-butyl N-arenesulfonyloxycarbamates." *Tetrahedron Lett.*, **50**: 3329, 2009.
- ¹⁴⁴ ALDER, C. M.; HAYLER, J. D.; HENDERSON, R. K.; REDMAN, A. M.; SHUKLA, L.; SHUSTER, L. E.; SNEDDON, H. F. "Updating and further expanding GSK's solvent sustainability guide." *Green Chem.*, **18**: 3879, 2016.
- ¹⁴⁵ (a) JEENA, V.; ROBINSON, R. S. "The 'Ireland' one-pot alcohol oxidation coupling reactions: celebrating 30 years of diverse synthesis." *Org. Biomol. Chem.*, **13**, 8958, 2015. (b) POLLEX, A.; MILLET, A.; MÜLLER, J.; HIERSEMANN, M., ABRAHAM, L. "Ester dienolate [2,3]-Wittig rearrangement in natural product synthesis: diastereoselective total synthesis of the triester of viridifungin A, A2, and A4." *J. Org. Chem.*, **70**, 5579, 2005.
- ¹⁴⁶ DEIANA, L.; DZIEDZIC, P.; ZHAO, G.; VESELY, J.; IBRAHEM, I.; RIOS, R.; SUN, J.; CORDOVA, A. "Catalytic asymmetric aziridination of α,β -unsaturated aldehydes." *Chem. Eur. J.*, **17**: 7904, 2011.
- ¹⁴⁷ DE FUSCO, C.; FUOCO T.; CROCE, G.; LATTANZI, A. "Noncovalent organocatalytic synthesis of enantioenriched terminal aziridines with a quaternary stereogenic center." *Org. Lett.*, **14**: 4078, 2012.
- ¹⁴⁸ ROUTIER, S., SAUGÉ, L., AYERBE, N., COUDERT, G., MÉROUR, J. "A mild and selective method for *N*-Boc deprotection." *Tetrahedron Lett.*, **43**: 589, 2002.
- ¹⁴⁹ HOLLINGWORTH, C.; GOUVERNEUR, V. "Transition metal catalysis and nucleophilic fluorination." *Chem. Commun.*, **48**: 2929, 2012.
- ¹⁵⁰ JERUSSI, T. P. "Methods for the treatment of neuroleptic and related disorders using sertindoles derivatives". WO 2009097996A1, 2000.
- ¹⁵¹ ALVIM JR., J., DIAS, R. L. A., CASTILHO, M. S., OLIVA, G., CORRÊA, A. G., "Preparation and evaluation of a coumarin library towards the inhibitory activity of the enzyme *ggapdh* from trypanosomacruzi." *J. Braz. Chem. Soc.*, **16**: 763, 2005.
- ¹⁵² VIEIRA, L. C.C., PAIXÃO, M. W., CORRÊA, A. G. "Green synthesis of novel chalcone and coumarin derivatives via Suzuki coupling reaction." *Tetrahedron Lett.*, **53**: 2715, 2012.

-
- ¹⁵³ CASTOR, K. J.; LIU, Z.; FAKHOURY, J.; HANCOCK, M. A.; MITTERMAIER, A.; MOITESSIER, N.; SLEIMAN, H. F. "A platinum(II) phenylphenanthroimidazole with an extended side-chain exhibits slow dissociation from a c-kit g-quadruplex motif." *Chem. Eur. J.*, **19**: 17836, 2013.
- ¹⁵⁴ BISHT, S. S.; DWIVEDI, N.; CHATURVEDI, V.; ANAND, N.; MISRA, M.; SHARMA, R.; KUMAR, B.; DWIVEDI, R.; SINGH, S.; SINHA, S. K.; GUPTA, V.; MISHRA, P. R.; DWIVEDI, A. K.; TRIPATHI, R. P. "Synthesis and optimization of antitubercular activities in a series of 4-(aryloxy)phenyl cyclopropyl methanols." *Eur. J. Med. Chem.*, **45**: 5965, 2010.
- ¹⁵⁵ MEUSEL, M.; GÜTSCHOW, M. "Recent developments in hydantoin chemistry. A review." *Org. Prep. Proced. Int.*, **36**: 391, 2004
- ¹⁵⁶ DIEHL, J.; OLSON, E.; WORMAN, J. "Kinetics of hydantoin formation." *FUEL*, **64**: 1019, 1985.
- ¹⁵⁷ CHUBB, F. L.; EDWARD, J. T.; WONG, S. C. "Simplex optimization of yields in the Bucherer-Bergs reaction". *J. Org. Chem.*, **45**: 2315, 1980.
- ¹⁵⁸ JAIN, R. K.; LOW, E; FRANCAVILLA, C.; SHIAU, T. P.; KIM, B.; NAIR, S. K., P. J. "Antimicrobial oxazolidinone, hydantoin and imidazolidinone compositions" WO2010054009-A1,2010.
- ¹⁵⁹ KEUSENKOTHEN, P. F.; SMITH, M. B. "Asymmetric radical cyclization with pyroglutamate: synthesis of 7-substituted pyrrolizidinones." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **17**: 2485, 1994.
- ¹⁶⁰ GARCIA, M. J.; AZERAD, R. "Production of ring-substituted D-phenylglycines by microbial or enzymatic hydrolysis/deracemisation of the corresponding Dihydantoins." *Tetrahedron: Asymmetry*, **8**: 85, 1997.
- ¹⁶¹ OBERMAYER, D.; DAMM, M.; KAPPE, C.O. "Design and evaluation of improved magnetic stir bars for single-mode microwave reactors." *Org. Biomol. Chem.* **11**: 4949, 2013.
- ¹⁶² URA, Y.; SAKATA, G. "Chloroamines", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VSCH, Weinheim, 2000.
- ¹⁶³ FAGHIHI, K.; ZAMANI, K.; MIRSAMIE, A.; SANGI, M. R. "Microwave-assisted rapid synthesis of novel optically active poly(amide-imide)s containing hydantoins and thiohydantoins in main chain". *Eur. Polym. J.*, **39**: 247, 2003.
- ¹⁶⁴ WAGNER, E. C.; BAIZER, M. "5,5-dimethylhydantoin." *Org. Synth.* **3**: 323, 1955.
- ¹⁶⁵ SILVA, A.V.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, A.; JUNQUEIRA, H. C.; RIVAS, L.; BAPTISTA, M. S.; ORELLANA, G. "Riboflavin derivatives for enhanced photodynamic activity against *Leishmania* parasites". *Tetrahedron*, **71**: 457, 2015.

-
- ¹⁶⁶ TAYYARI, F.; GOWDA, G. A. N.; GU, H.; RAFTERY, D. “¹⁵N-Cholamine - A Smart isotope tag for combining NMR- and MS-Based Metabolite Profiling.” *Anal. Chem.*, **85**: 8715, 2013.
- ¹⁶⁷ (a) TOMASHENKO O. A.; GRUSHIN, V. V. “Aromatic trifluoromethylation with metal complexes.” *Chem. Rev.*, **111**: 4475, 2011. (b) ROY, S.; GREGG, B. T.; GRIBBLE, G. W.; LE, V.-D.; ROY, S. “Trifluoromethylation of aryl and heteroaryl halides.” *Tetrahedron*, **67**: 2161, 2011. (c) FURUYA, T.; KAMLET, A. S.; RITTER, T. “Catalysis for fluorination and trifluoromethylation.” *Nature*, **473**: 470, 2011.
- ¹⁶⁸ (a) STUDER, A. “A “Renaissance” in radical trifluoromethylation.” *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**: 8950, 2012. (b) DOLBIER JR, W. R. “Structure, reactivity, and chemistry of fluoroalkyl radicals.” *Chem. Rev.*, **96**: 1557, 1996.
- ¹⁶⁹ BEATTY, J. W.; DOUGLAS, J. J.; COLE, K. P.; STEPHENSON, C. R. J. “A scalable and operationally simple radical trifluoromethylation.” *Nat. Commun.*, **10** (6): 7919, 2015.
- ¹⁷⁰ JI, Y.; BRUECKL, T.; BAXTER, R. D.; FUJIWARA, Y.; SEIPLE, I. B.; SU, S.; BLACKMOND, D. G.; BARAN, P. S. “Innate C-H trifluoromethylation of heterocycles.” *PNAS*, **108**: 14411, 2011.
- ¹⁷¹ LI, L.; MU, X.; LIU, W.; WANG, Y.; MI, Z.; LI, C.-J. “Simple and clean photoinduced aromatic trifluoromethylation reaction.” *J. Am. Chem. Soc.*, **138**: 5809, 2016.
- ¹⁷² (a) FONTANA, F.; MINISCI, F.; VISMARA, E. “New general and convenient sources C-F alkyl radicals, useful for selective syntheses.” *Tetrahedron Lett.* **29**: 1975, 1988. (b) MINISCI, F.; VISMARA, E.; FONTANA, F. “Homolytic alkylation of protonated heteroaromatic bases by alkyl iodides, hydrogen peroxide, and dimethyl sulfoxide.” *J. Org. Chem.*, **54**: 5224, 1989.
- ¹⁷³ BACIOCCHI, E.; MURAGLIA, E.; SLEITER, G. “Homolytic substitution reactions of electron-rich pentatomic heteroaromatics by electrophilic carbon-centered radicals. Synthesis of α -heteroarylacetic acids.” *J. Org. Chem.*, **57**: 6817, 1992.
- ¹⁷⁴ VELTWISCH, D.; JANATA, E.; ASMUS, K. D. J. “Primary processes in the reaction of OH \cdot -radicals with sulphoxides”. *Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1**: 146, 1980.
- ¹⁷⁵ BRAVO, A.; BJØRSVIK, H.; FONTANA, F.; LIGUORI, L.; MELE, A.; MINISCI, F. “New methods of free-radical perfluoroalkylation of aromatics and alkenes. Absolute rate constants and partial rate factors for the homolytic aromatic substitution by *n*-perfluorobutyl radical”. *J. Org. Chem.*, **62**: 7128, 1997.
- ¹⁷⁶ DUNCTON, M. A. J. “Minisci reactions: Versatile CH-functionalizations for medicinal chemists”. *Med. Chem. Commun.*, **2**: 1135, 2011.

¹⁷⁷ (a) KINO, T.; NAGASE, Y.; OHTSUKA, Y.; YAMAMOTO, K.; URAGUCHI, D.; TOKUHISA, K.; YAMAKAWA, T. "Trifluoromethylation of various aromatic compounds by CF₃I in the presence of Fe(II) compound, H₂O₂ and dimethylsulfoxide". *J. Fluorine Chem.*, **131**: 98, 2010. (b) OHTSUKA, Y.; URAGUCHI, D.; YAMAMOTO, K.; TOKUHISA, K.; YAMAKAWA, T. "Syntheses of 2-(trifluoromethyl)-1,3-dicarbonyl compounds through direct trifluoromethylation with CF₃I and their application to fluorinated pyrazoles syntheses." *Tetrahedron*, **68**: 2636, 2012. (c) URAGUCHI, D.; YAMAMOTO, K.; OHTSUKA, Y.; TOKUHISA, K.; YAMAKAWA, T. "Catalytic trifluoromethylation of uracil to 5-trifluoromethyluracil by use of CF₃I and its industrial applications". *Appl. Catal. A: General*, **342**: 137, 2008.

¹⁷⁸ YOSHIDA J.-I.; NAGAKI, A.; YAMADA, T. "Flash chemistry: fast chemical synthesis by using microreactors." *Chem. Eur. J.*, **14**: 7450, 2008. (b) KIM, H.; NAGAKI, A.; YOSHIDA, J.-I. "A flow-microreactor approach to protecting-group-free synthesis using organolithium compounds." *Nat. Commun.*, **2**: 264, 2011.

¹⁷⁹ LYNCH, B. M.; CHANG, H. S. "Concentration-dependent orientations in free-radical phenylations of heteroaromatic compounds". *Tetrahedron Lett.*, **5**: 2965, 1964.

¹⁸⁰ (a) BROWN, R. D. "The localization theory of organic reactions. Part III. Radical substitution in pyridine." *J. Chem. Soc.*, 1956, 272. (b) BROWN, R. D.; HEFFERNAN, M. L. "The chemistry of pyridine, pyrimidine, and pyrazine." *Aust. J. Chem.*, **9**: 83, 1956.

¹⁸¹ BACIOCCHI, E.; MURAGLIA, E. "Synthesis of perfluoroalkylpyrroles by homolytic substitution with perfluoroalkyl radicals". *Tetrahedron Lett.*, **34**: 3799, 1993.

¹⁸² TEDDER, J. M. "Which factors determine the reactivity and regioselectivity of free radical substitution and addition reactions?" *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **21**: 401, 1982.

¹⁸³ BALAGUE, J.; AMEDURI, B.; BOUTEVIN, B.; CAPORICCIO, G. "Synthèse de télomères fluorés. Partie II. Télomérisation du trifluoroéthylène avec des iodures de perfluoroalkyle." *J. Fluorine Chem.*, **73**: 237, 1995.

¹⁸⁴ SILVA, J. I. Acetilcolinesterase immobilizada em capilares de sílica fundida: novo formato para triagem de inibidores enzimáticos. Ribeirão Preto. Programa de Pós-graduação em Química. - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2011. Dissertação de mestrado, 121 p.

¹⁸⁵ CARDOSO, C. L.; LIMA, V. V.; ZOTTIS, A.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D.; WAINER, I. W.; MOADDEL, R.; CASS, Q. B. "Development and characterization of an immobilized enzyme reactor (IMER) based on human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase for on-line enzymatic studies." *J. Chromatogr. A*, **1120**: 151, 2006.

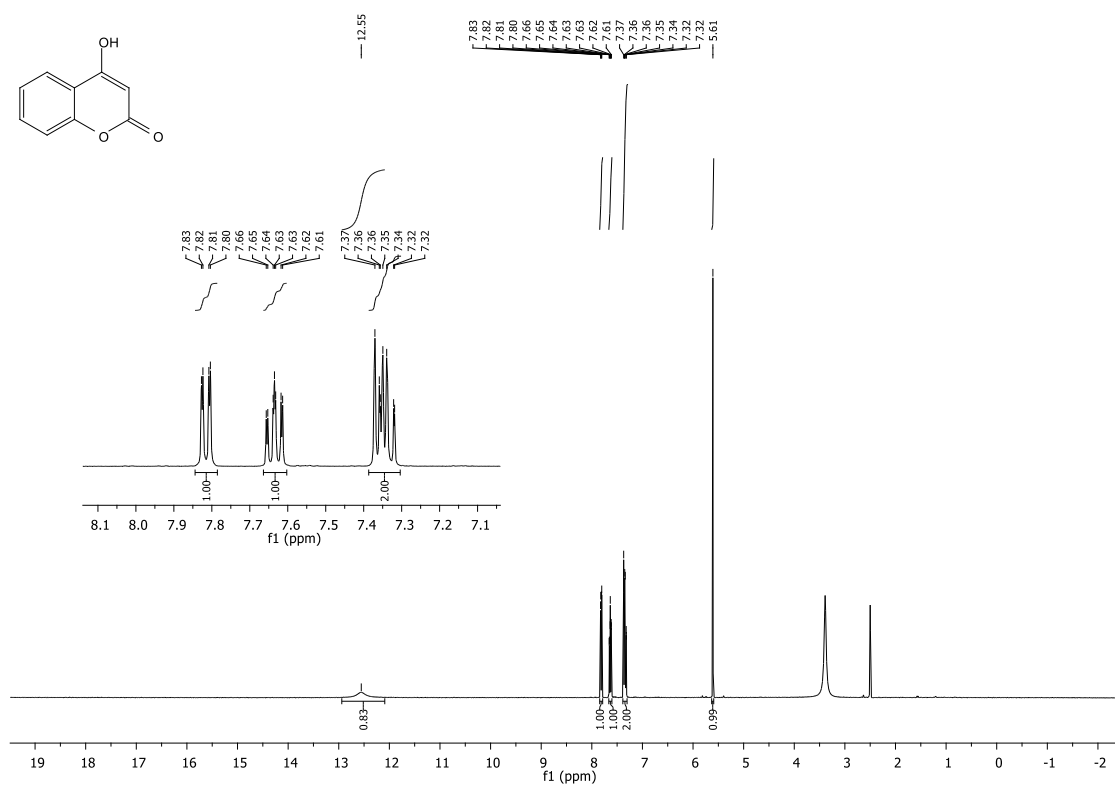
¹⁸⁶ Vanzolini, K. L Biorreatores de acetilcolinesterase: estudo de condições para triagem de ligantes. São Carlos. Programa de Pós graduação em Química. – UFSCar. 2013. Tese de doutorado, 114 p.

-
- ¹⁸⁷ BUCKLE, D. R.; CANTELLO, B. C. C.; SMITH, H.; SPICER, B. A. "Antiallergic activity of 4-hydroxy-3-nitrocoumarins." *J. Med. Chem.*, **18** (4): 391, 1975.
- ¹⁸⁸ GUO, C.; HU, M.; DEORAZIO, R. J.; USYATINSKY, A.; FITZPATRICK, K.; ZHANG, Z.; MAENG, J.-H.; KITCHEN, D. B.; TOM, S.; LUCHE, M.; KHMELNITSKY, Y.; MHYRE, A. J.; GUZZO, P. R.; LIU, S. "The design and synthesis of novel SGLT2 inhibitors: C-glycosides with benzyltriazolopyridinone and phenylhydantoin as the aglycone moieties." *Bioorg. Med. Chem.*, **22**: 3414, 2014.
- ¹⁸⁹ CHEN, Y.; SU, L.; YANG, X.; PAN, W.; FANG, H. "Enantioselective synthesis of 3,5-disubstituted thiohydantoins and hydantoins." *Tetrahedron*, **71**: 9234, 2015.
- ¹⁹⁰ DEWITT, S. H. H.; KELL, M.; PAVIA, M. R.; KIELY, J. S.; SCHROEDER, M. C.; STANKOVIC, C. J.; WARE, S. "Apparatus and method for multiple simultaneous synthesis." U.S., 5702672, 1997.
- ¹⁹¹ ZHONG, B.; VATOLIN, S.; IDIPPILY, N. D.; LAMA, R.; ALHADAD, L. A.; REU, F. J.; SU, B. "Structural optimization of non-nucleoside DNA methyltransferase inhibitor as anti-cancer agent." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**: 1272, 2016.
- ¹⁹² PEPINO, A. J.; PELÁEZ, W. J.; FAILLACE, M. S.; CEBALLOS, N. M.; MOYANO, E. L.; ARGÜELLO G. A. "(S)-5-Benzyl- and 5-benzylidene-imidazo-4-one derivatives synthesized and studied for an understanding of their thermal reactivity." *RSC Adv.*, **4**: 60092, 2014.
- ¹⁹³ MURRAY, R. G.; WHITEHEAD, D. M.; LE STRAT, F.; CONWAY, S. J. "Facile one-pot synthesis of 5-substituted hydantoins". *Org. Biomol. Chem.*, **6**: 988, 2008.
- ¹⁹⁴ MONTAGNE, C.; SHIERS, J. J.; SHIPMAN, M. "Rapid generation of molecular complexity using sequenced multi-component reactions. One-pot synthesis of 5,5'-disubstituted hydantoins from methyleneaziridines." *Tetrahedron Lett.*, **47** (52): 9207, 2006.
- ¹⁹⁵ SAFARI, J.; GANDOMI-RAVANDI, S.; JAVADIAN, L. "Microwave-promoted facile and rapid synthesis procedure for the efficient synthesis of 5,5-disubstituted hydantoins". *Synth. Commun.*, **43**: 3115, 2013.
- ¹⁹⁶ PORRET, DANIEL; HABERMEIER, JUERGEN "Dialkoxyposphonoalkyl derivatives of glycidyl group-containing cyclic ureides." *Ger. Offen.*, DE 2361494 A1, 0620, 1974.
- ¹⁹⁷ FRANCAVILLA, C.; TURTLE, E. D.; KIM, B.; O'MAHONY, D. J. R.; SHIAU, T. P.; LOW, E.; ALVAREZ, N. J.; CELERI, C. E.; D'LIMA, L.; FRIEDMAN, L. C.; RUADO, F. S.; XU, P.; ZUCK, M. E.; ANDERSON, M. B.; NAJAFI, R. R.; JAIN, R. K. "Novel N-chloroheterocyclic antimicrobials." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**: 3029, 2011.
- ¹⁹⁸ SUZUKI T.; IGARASHKI, K.; HASE, K.; TUZIMURA, K. "Optical rotatory dispersion and circular dichroism of amino acid hydantoins". *Agric. Biol. Chem.*, **37**: 411, 1973.

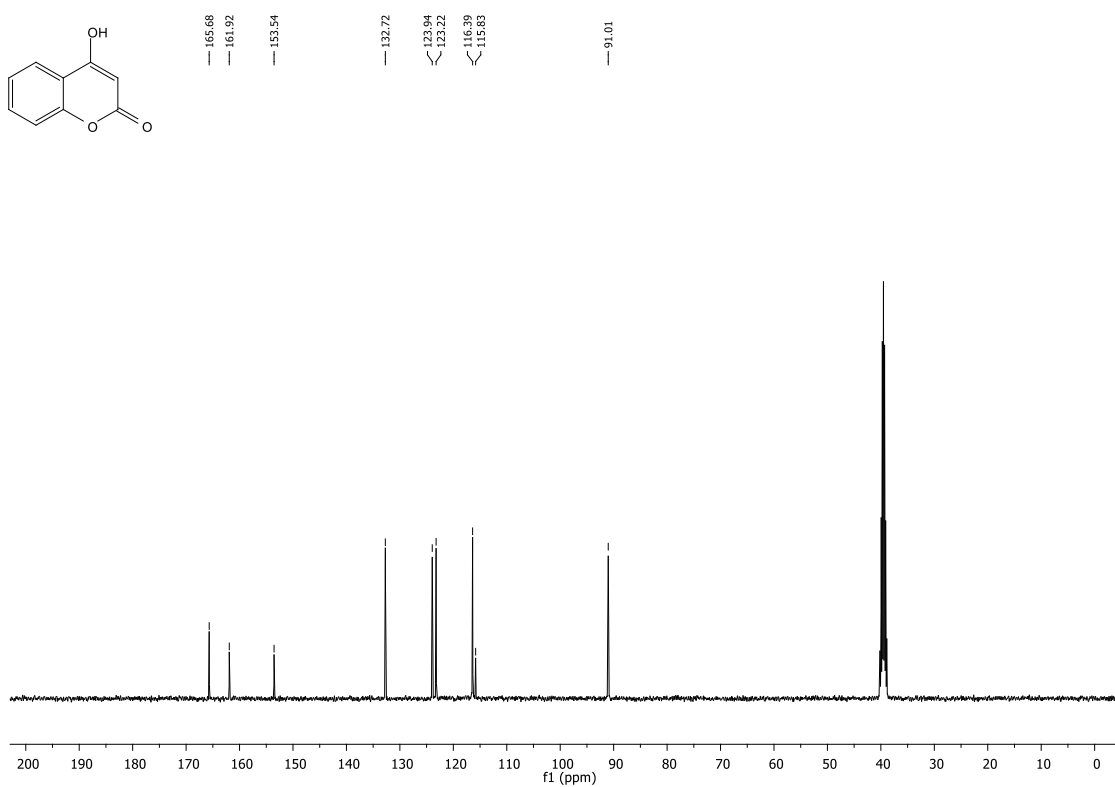
-
- ¹⁹⁹ KASHIF, M. K.; HUSSAIN, A.; RAUF, M. K.; EBIHARA, M.; HAMEED S. "5-(4-Fluorophenyl)-5-methylimidazolidine-2,4-dione". *Acta Cryst. E.*, **64**: 444, 2008.
- ²⁰⁰ PERSCH, W; SCHMIDT, A. "Hydantoins compounds". US2687416 A, 1954.
- ²⁰¹ CHU, C.; TEAG, C. P. "4-Pyridylhydantoins". *J. Org. Chem.*, **23**: 1578, 1958,
- ²⁰² PESQUET, A.; DAÏCH, A.; VAN HIJFTE, L. "General and versatile entry to 4,5-fused polycyclic imidazolones systems. Use of the tandem transposition/ π -cyclization of *n*-acyliminium species". *J. Org. Chem.*, **71**: 5303, 2006.
- ²⁰³ GE, F.; WANG, Z.; WAN, W.; HAO, J. "Grignard cyclization reaction of fluorinated *n*-arylimidoyl chlorides: a novel and facile access to 2-fluoroalkyl indoles". *Synlett*, **3**: 447, 2007.
- ²⁰⁴ HE, R.; ZENG, H.; HUANG, J. "Direct fluoroalkylation of indoles with fluoroalkyl halides mediated by copper". *Eur. J. Org. Chem.*, **20**: 4258, 2014.

ANEXOS

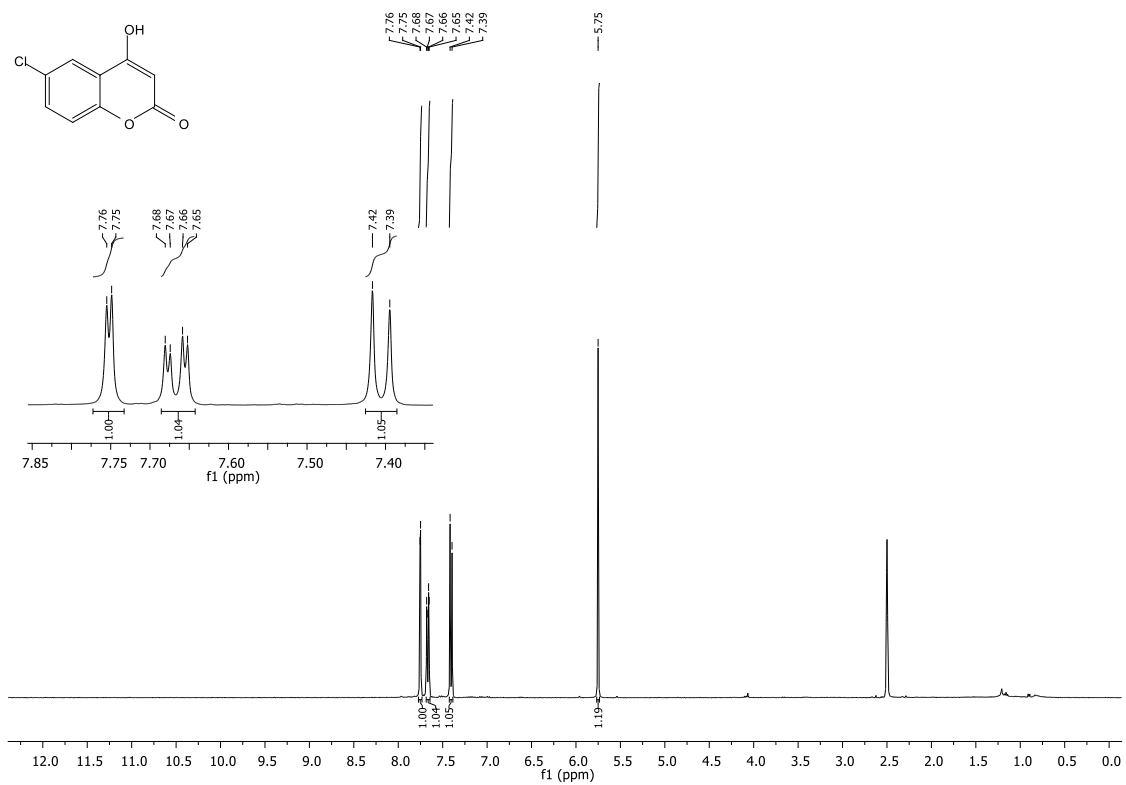
7 - ANEXOS



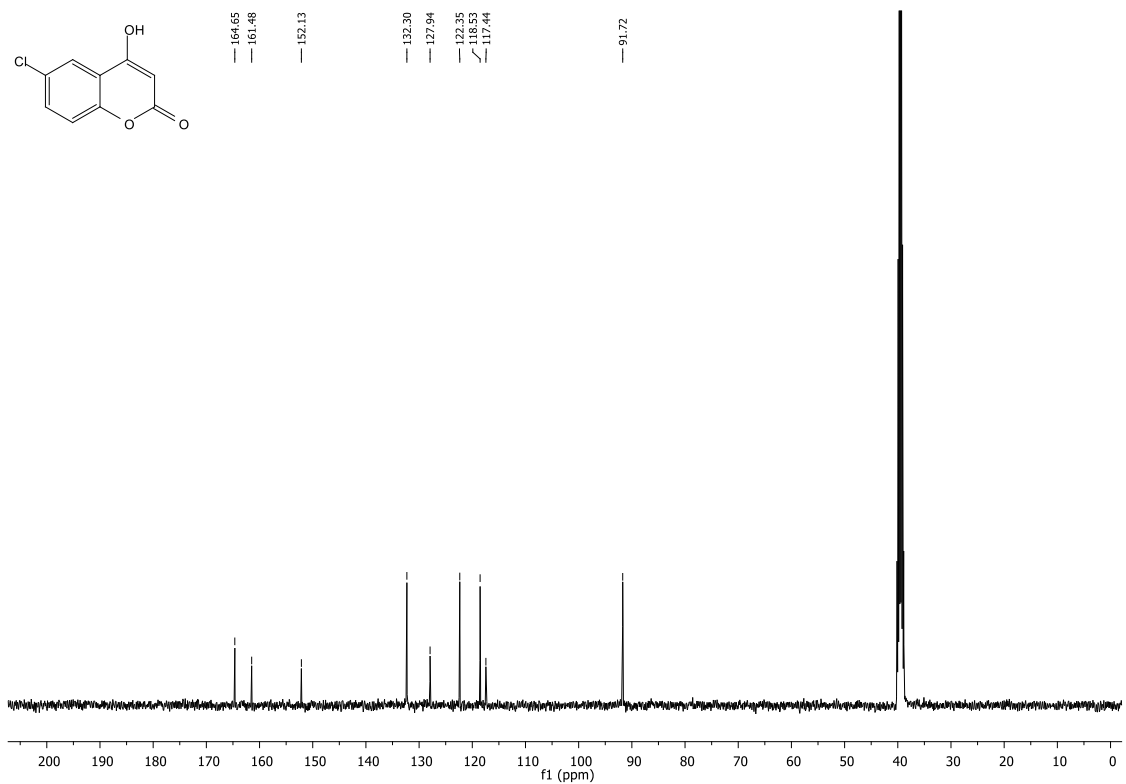
Espectro de RMN ^1H do composto **3a** em DMSO- d_6 , a 400 MHz.



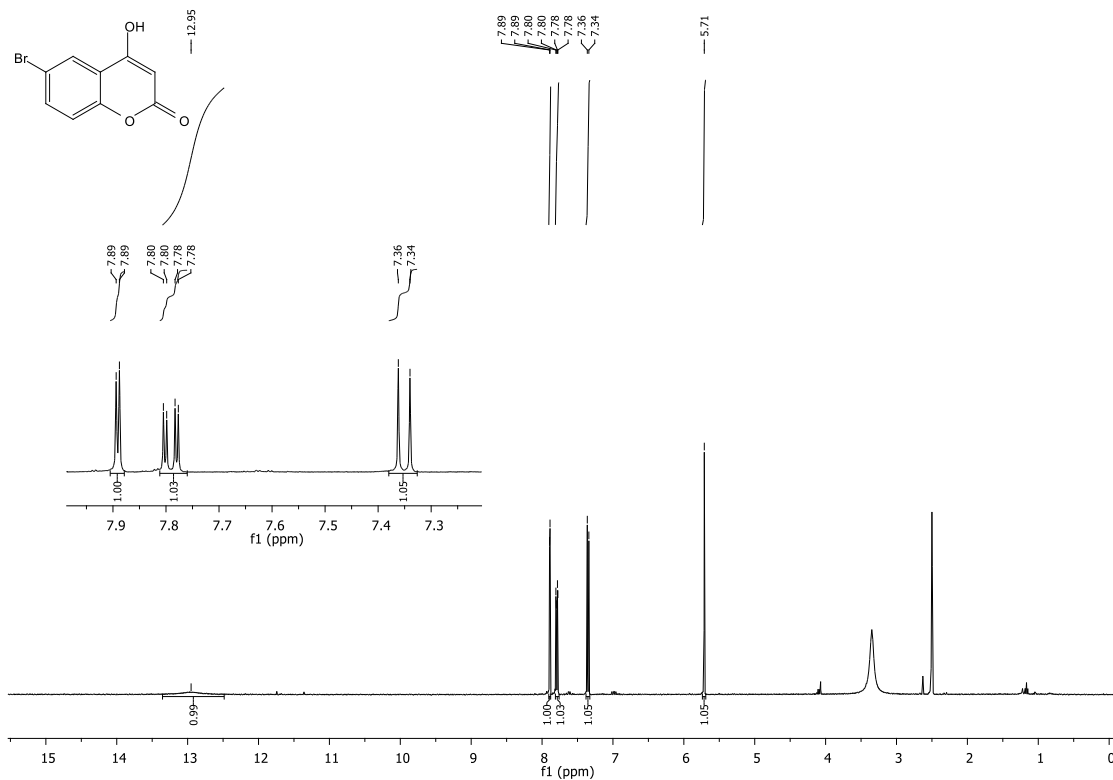
Espectro de RMN ^{13}C do composto **3a** em DMSO- d_6 , a 100 MHz.



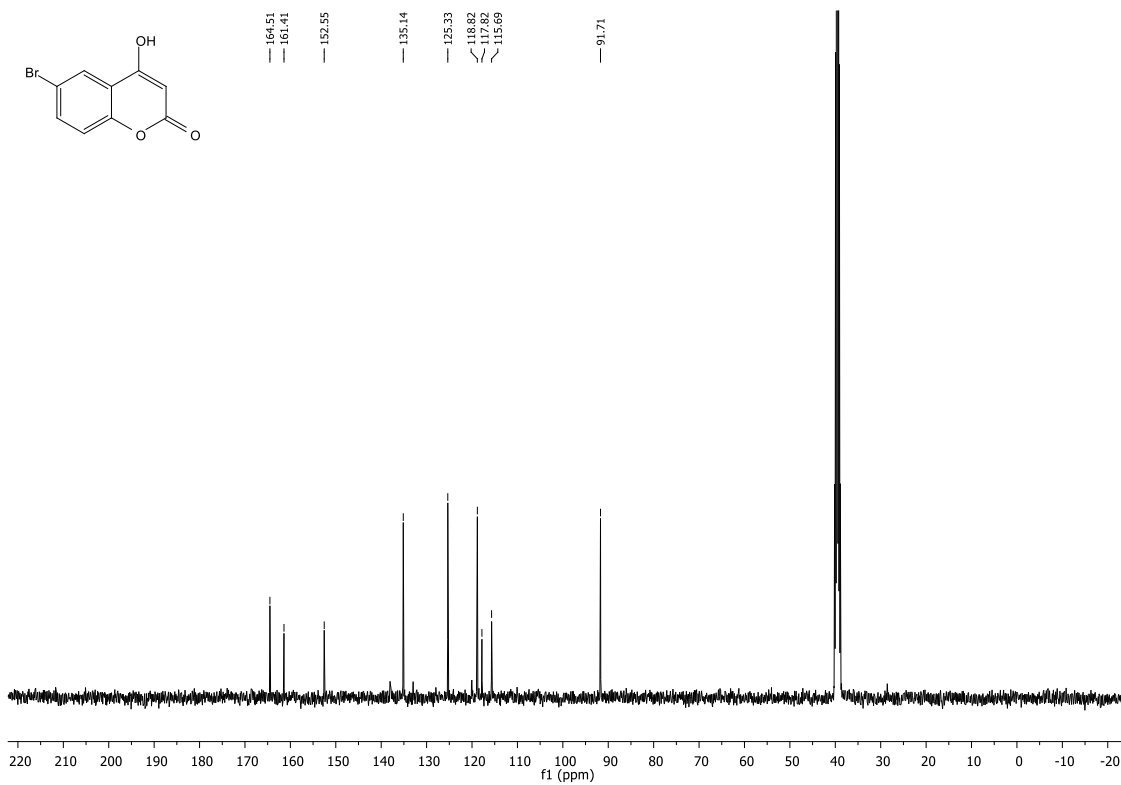
Espectro de RMN ^1H do composto **3b** em DMSO- d_6 , a 400 MHz.



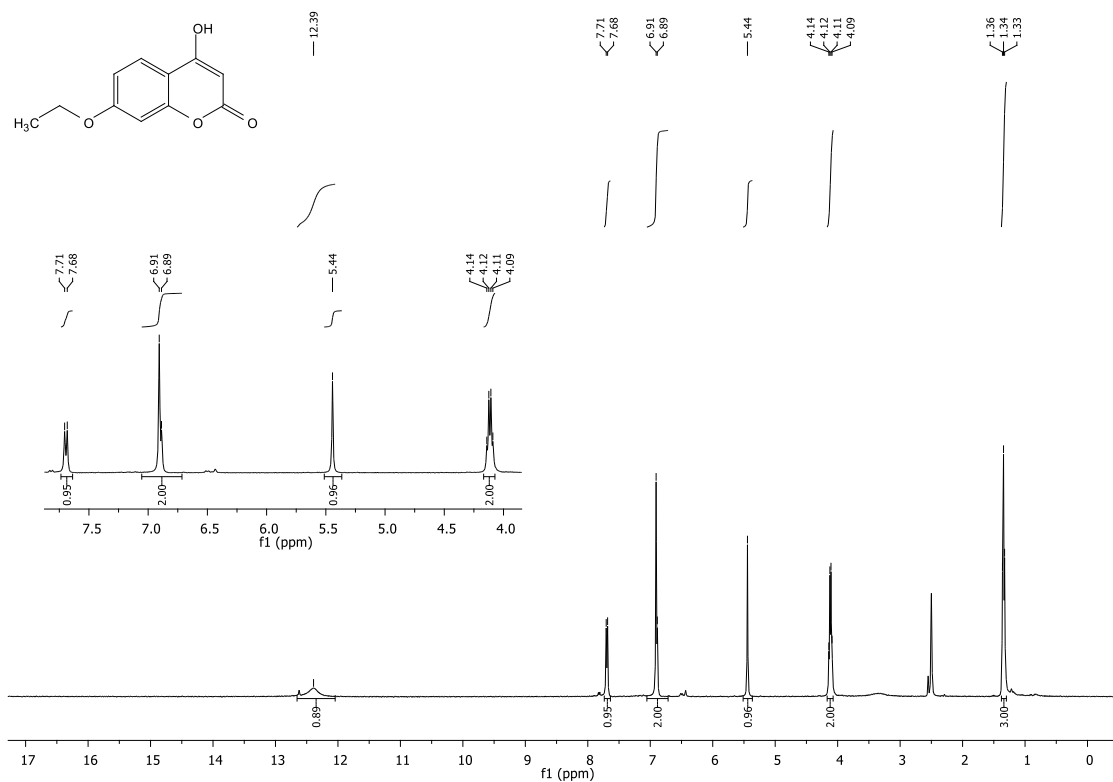
Espectro de RMN ^{13}C do composto **3b** em DMSO- d_6 , a 100 MHz.



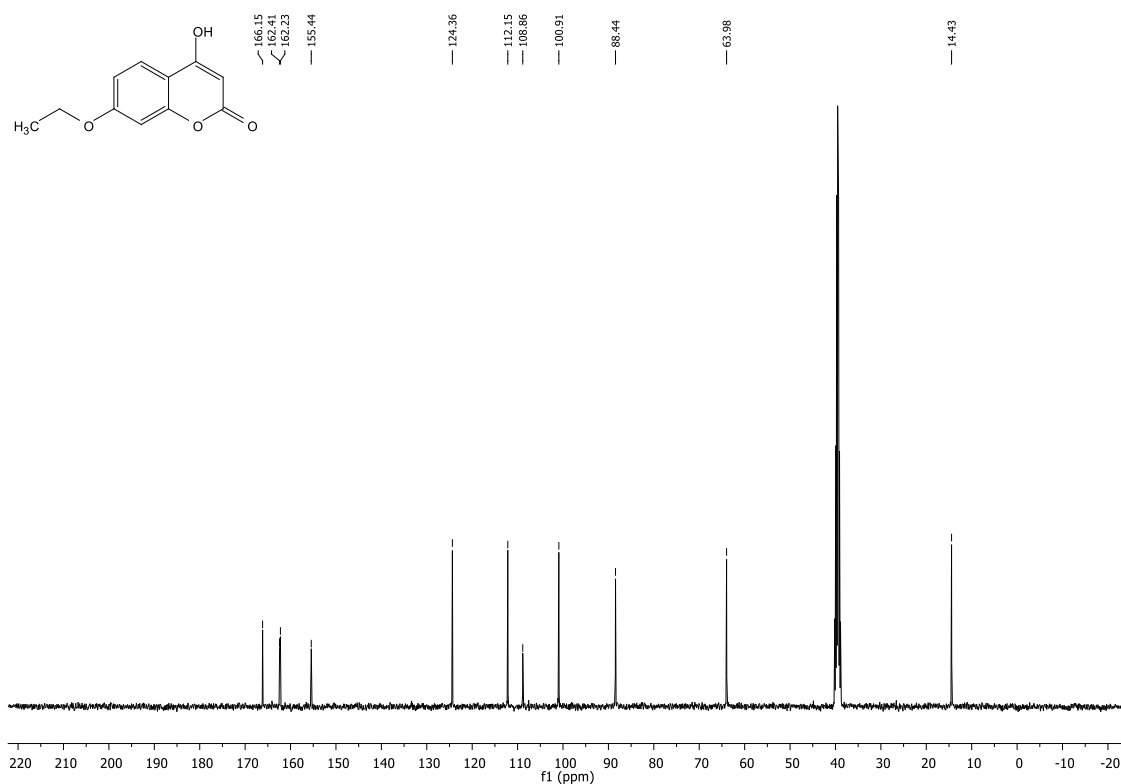
Espectro de RMN ¹H do composto **3c** em DMSO-d₆, a 400 MHz.



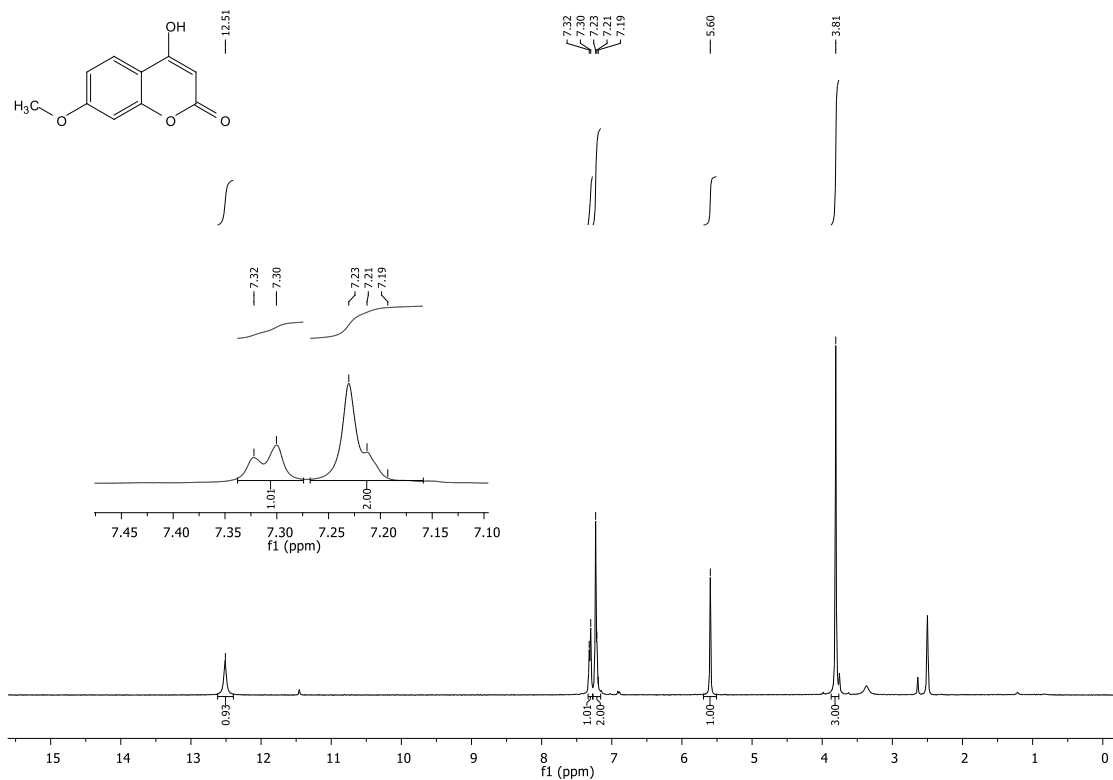
Espectro de RMN ¹³C do composto **3c** em DMSO-d₆, a 100 MHz.



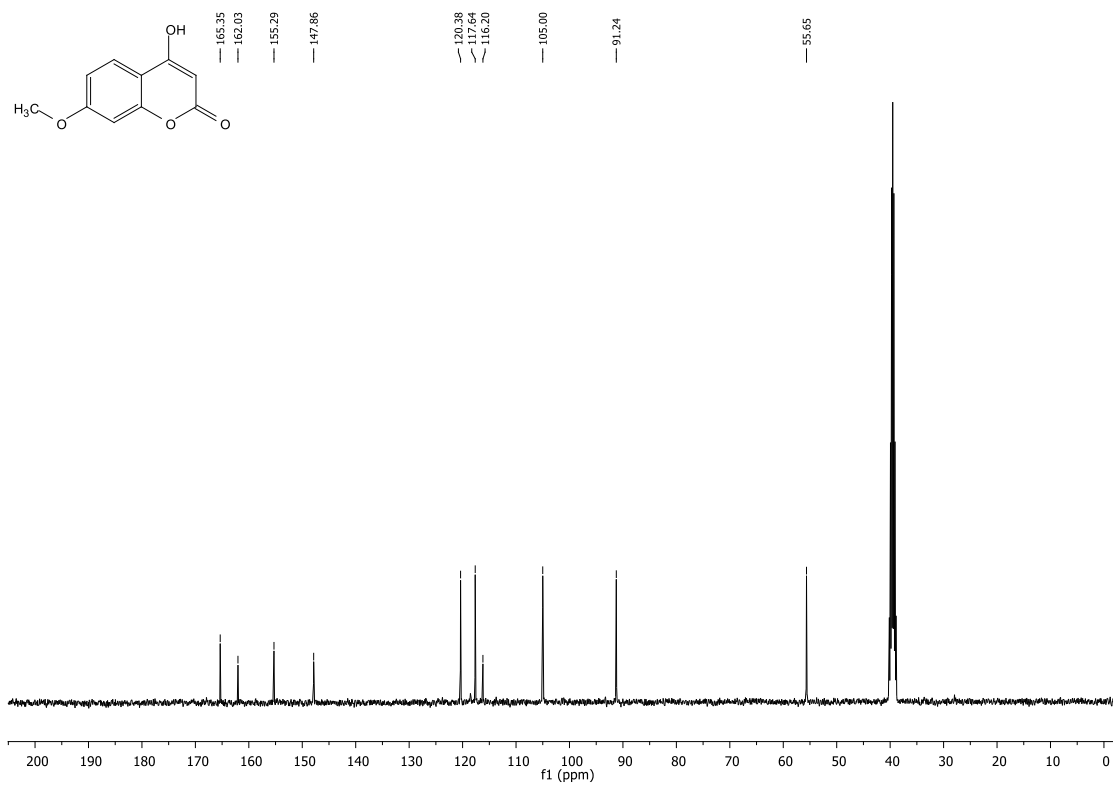
Espectro de RMN ¹H do composto **3d** em DMSO-d₆, a 400 MHz.



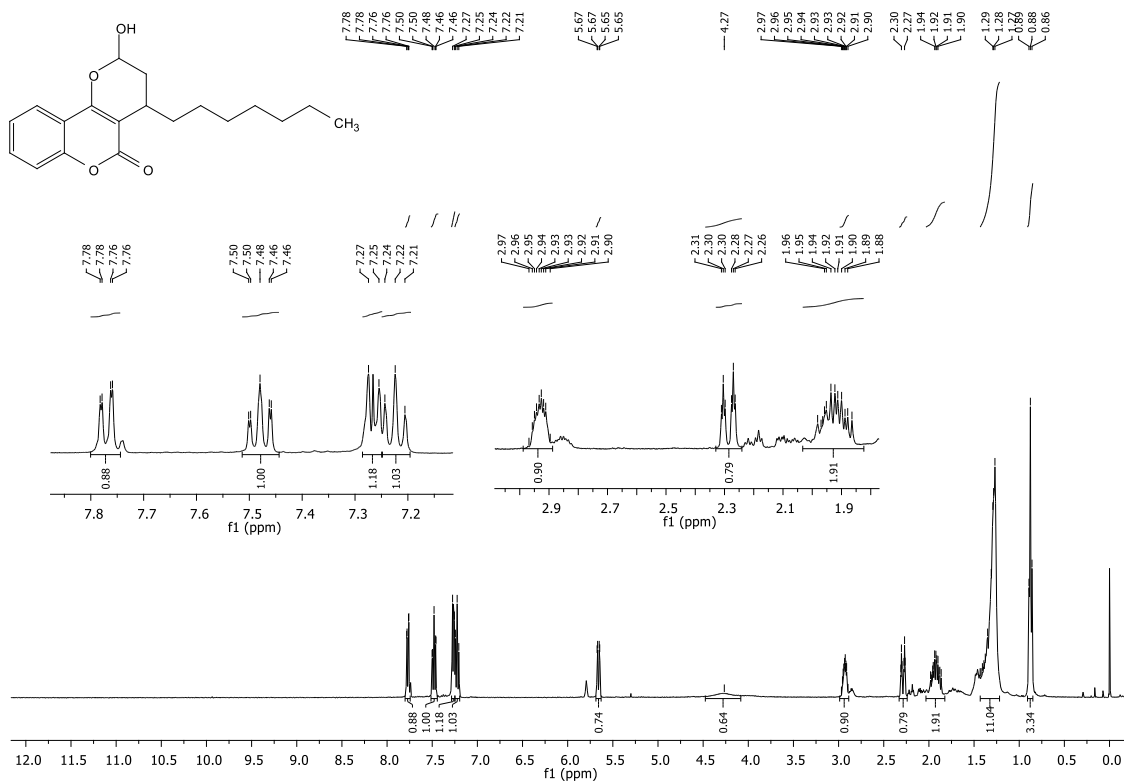
Espectro de RMN ¹³C do composto **3d** em DMSO-d₆, a 100 MHz.



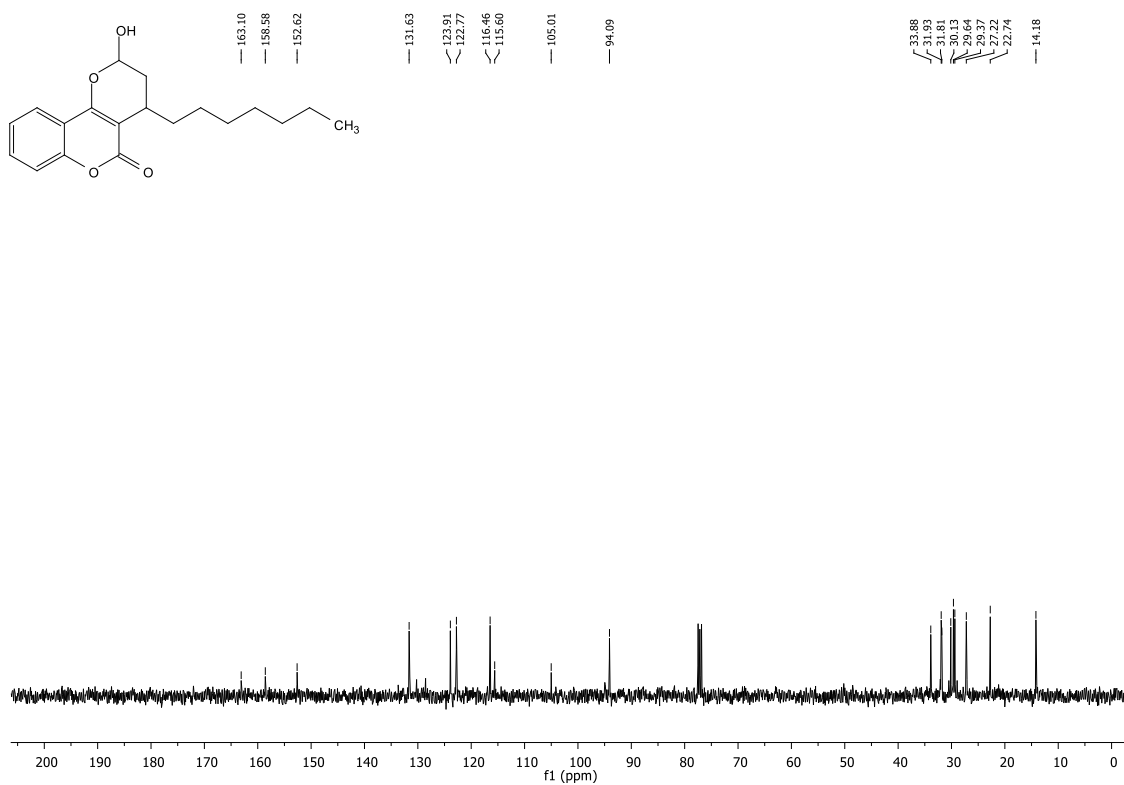
Espectro de RMN ¹H do composto **3e** em DMSO-d₆, a 400MHz.



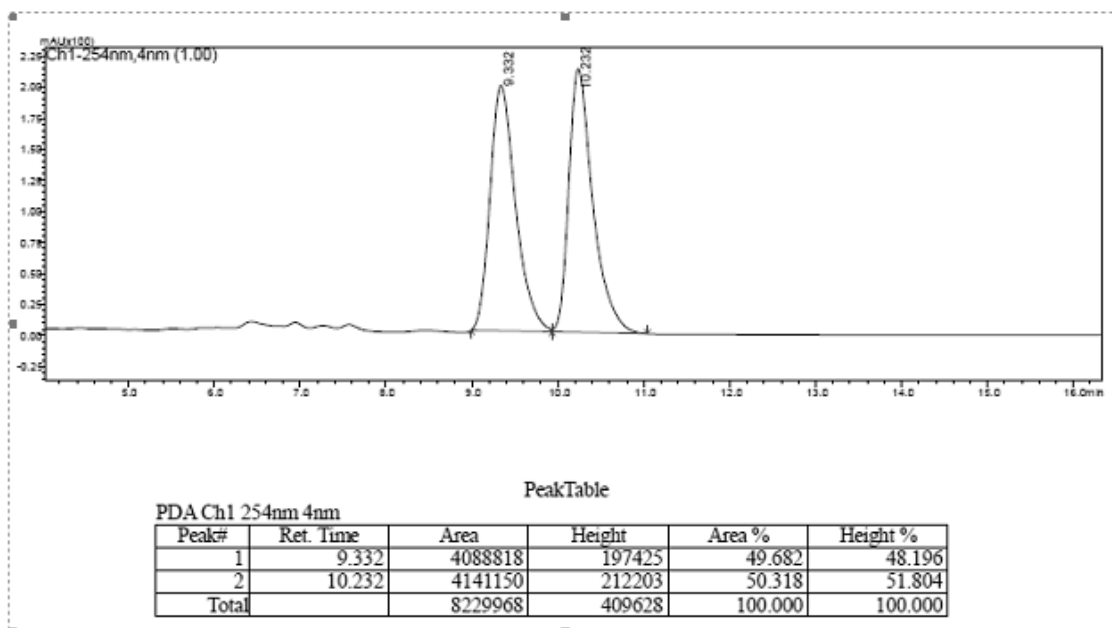
Espectro de RMN ¹³C do composto **3e** em DMSO-d₆, a 100 MHz.



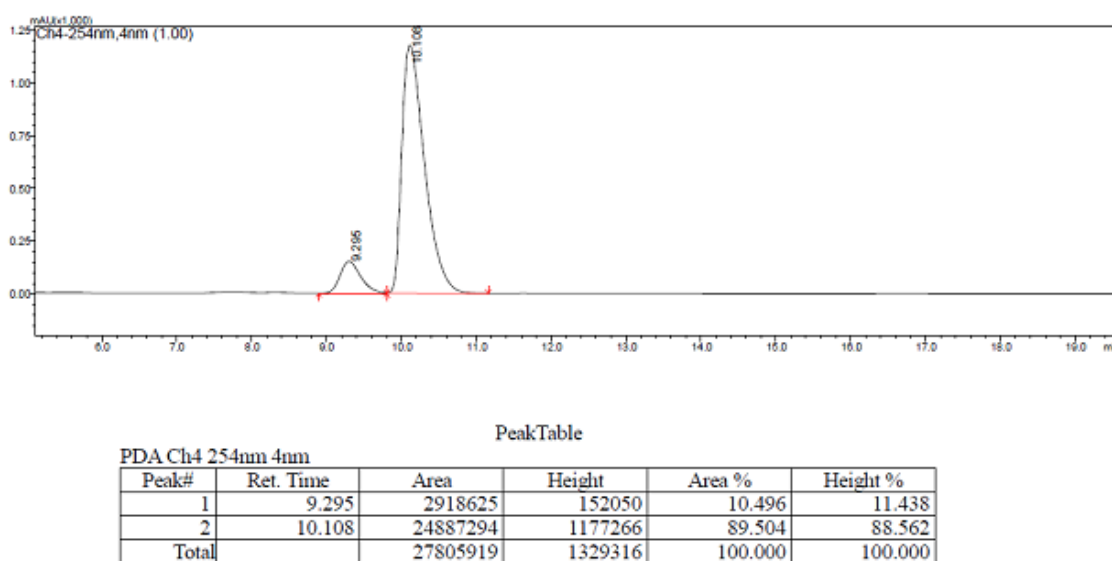
Espectro de RMN ¹H do composto **4a** em CDCl₃ a 400 MHz.



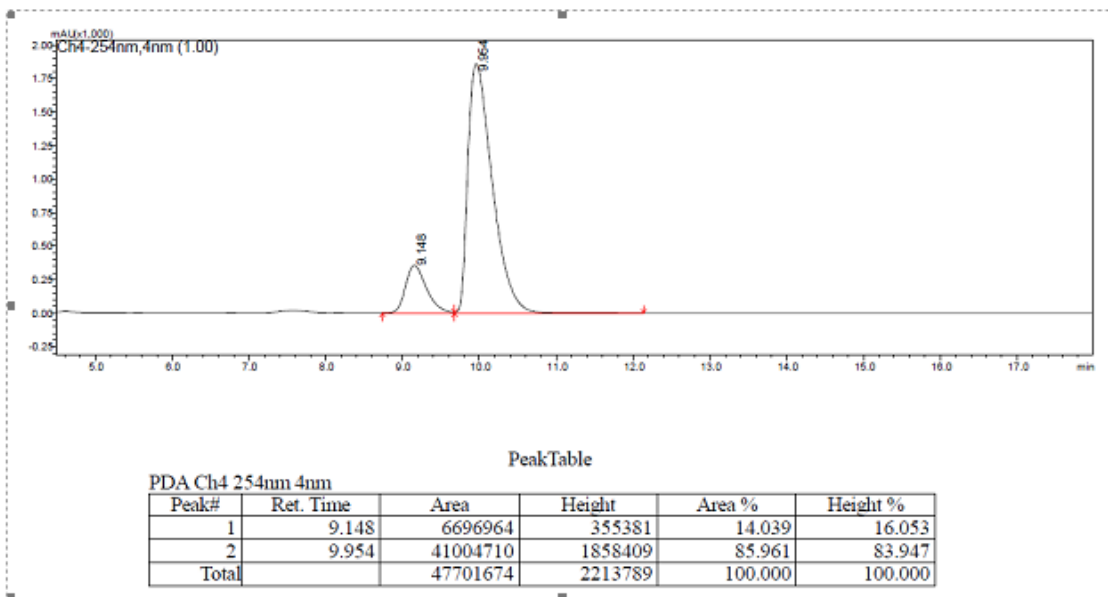
Espectro de RMN ¹³C do composto **4a** em CDCl₃ a 100 MHz.



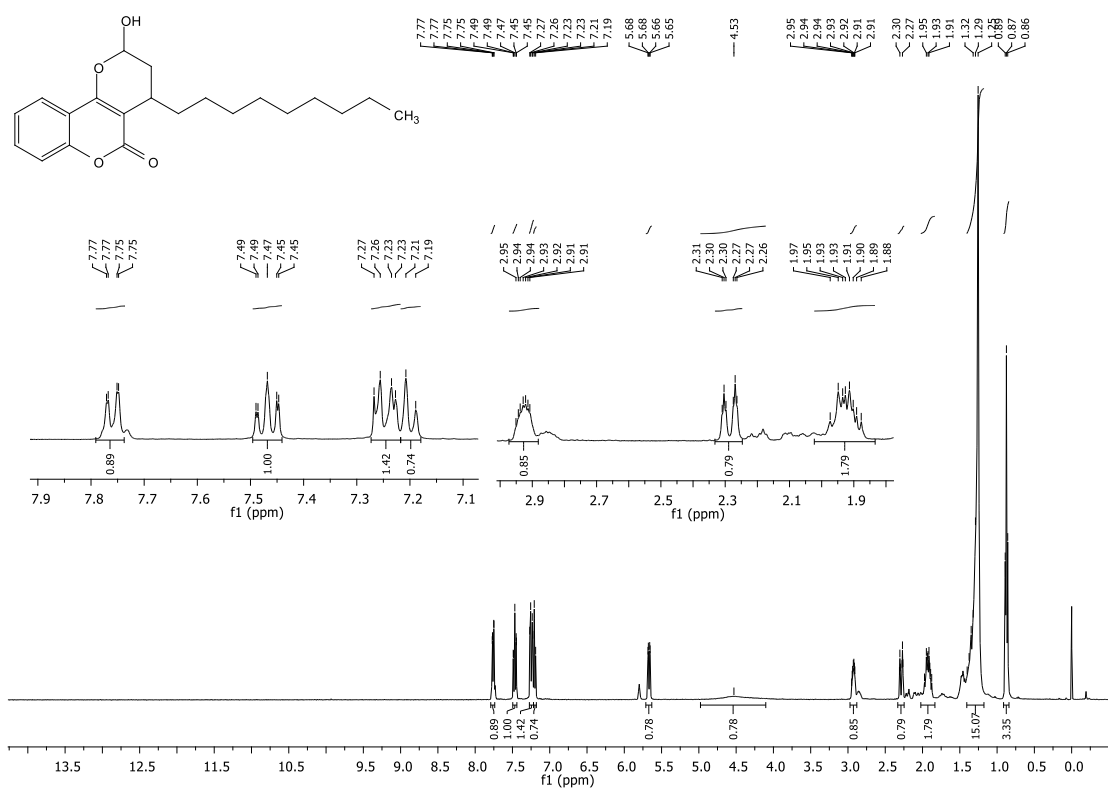
Cromatograma do composto **4a** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



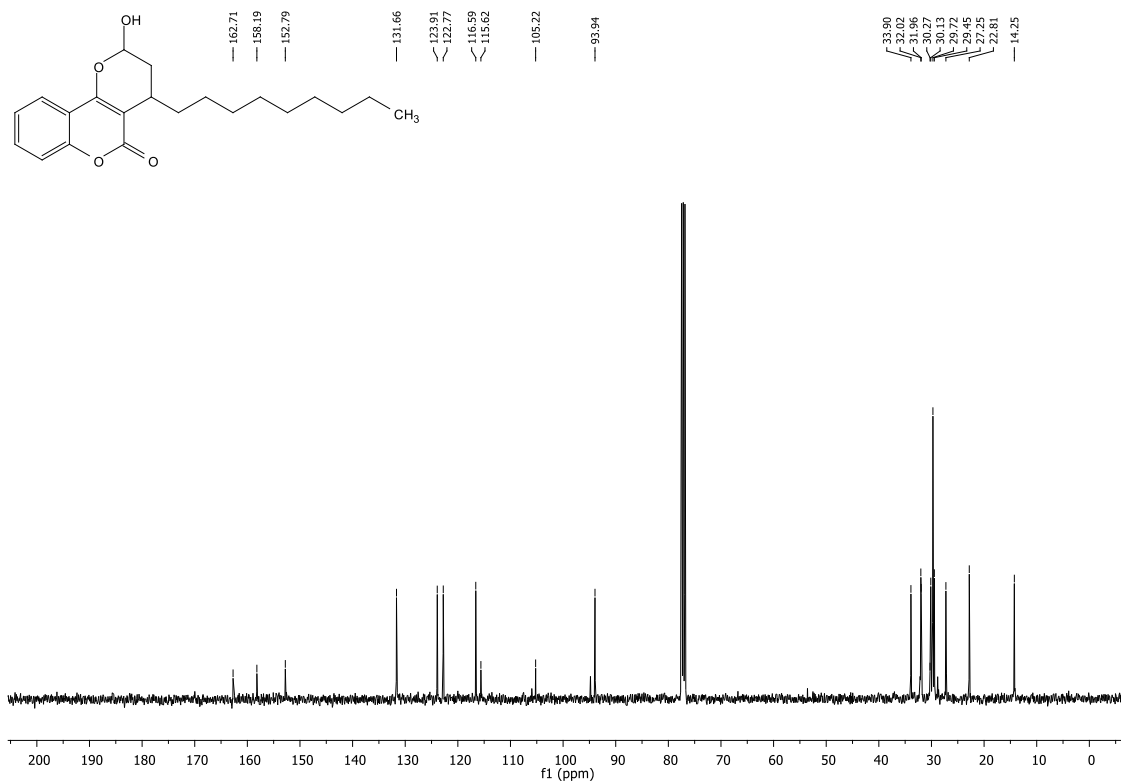
Cromatograma do composto **4a** assimétrico sintetizado em 16h, via metodologia convencional, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



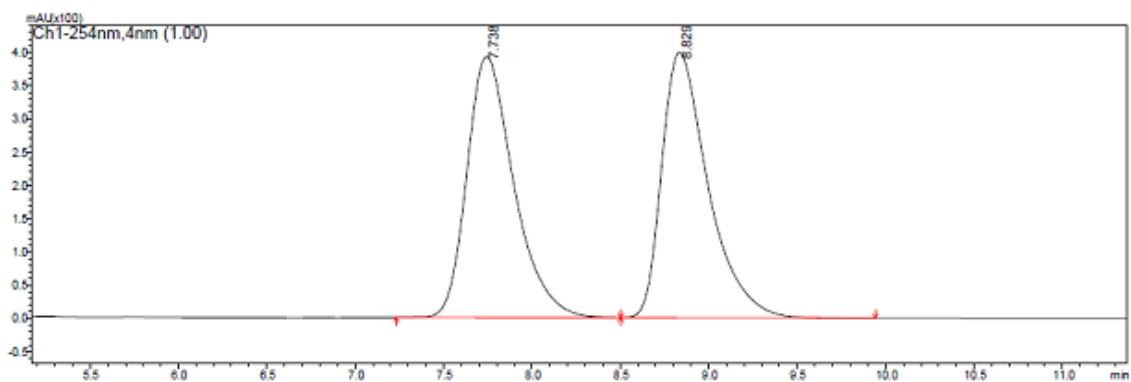
Cromatograma do composto **4a** assimétrico sintetizado em 30 min., via micro-ondas acoplado ao colmate, coluna AD-H, hexano: isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ¹H do composto **4b** em CDCl₃ a 400 MHz.



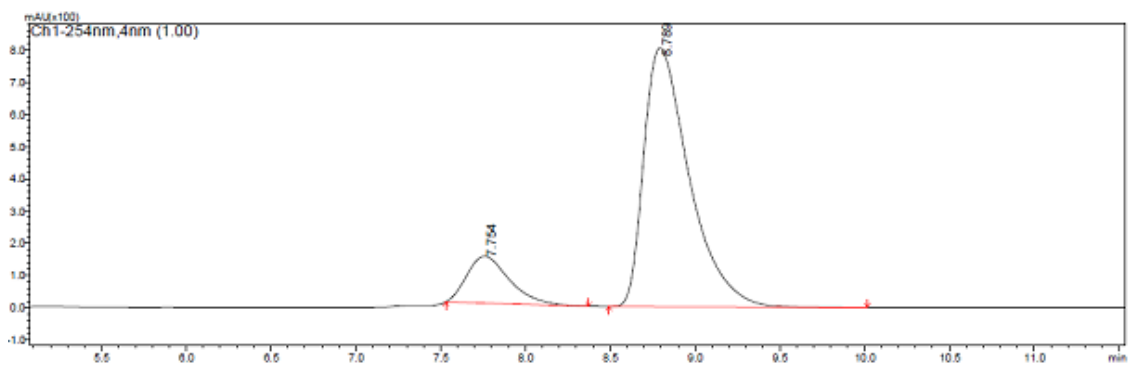
Espectro de RMN ^{13}C do composto **4b** em CDCl_3 , a 100 MHz.



PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	7.738	7251614	391978	49.996	49.549
2	8.829	7252642	399106	50.004	50.451
Total		14504256	791084	100.000	100.000

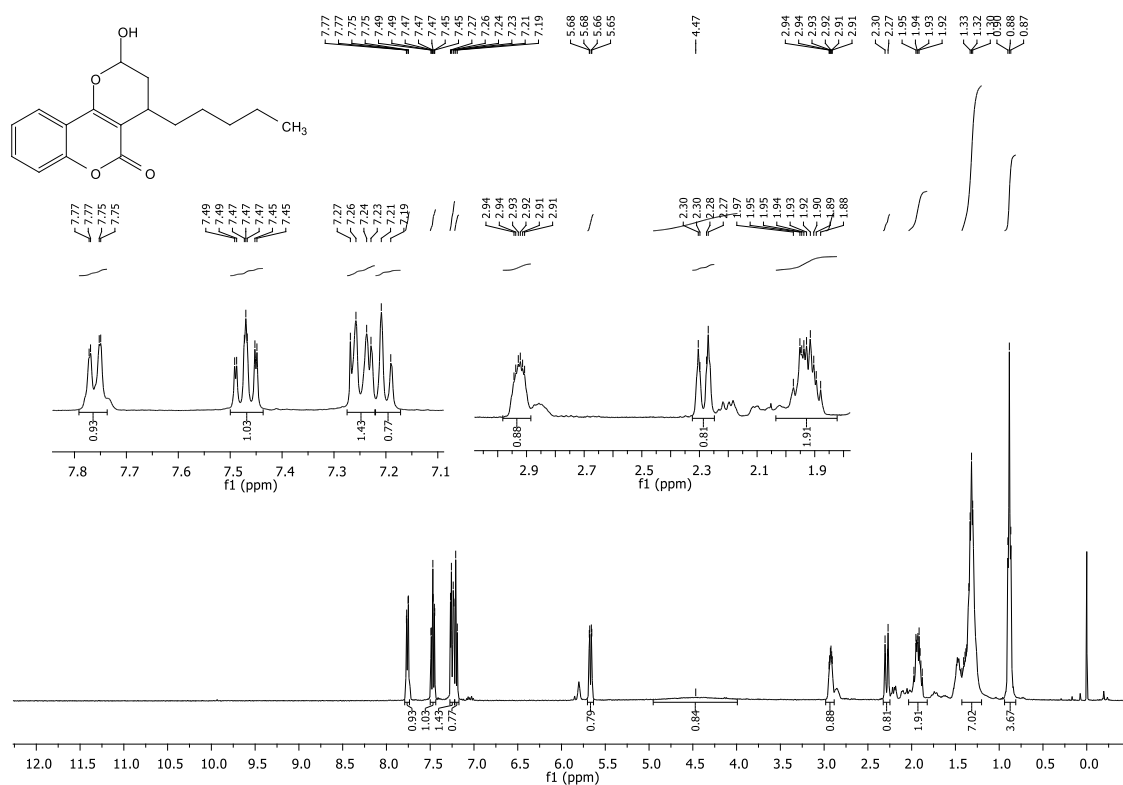
Cromatograma do composto **4b** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



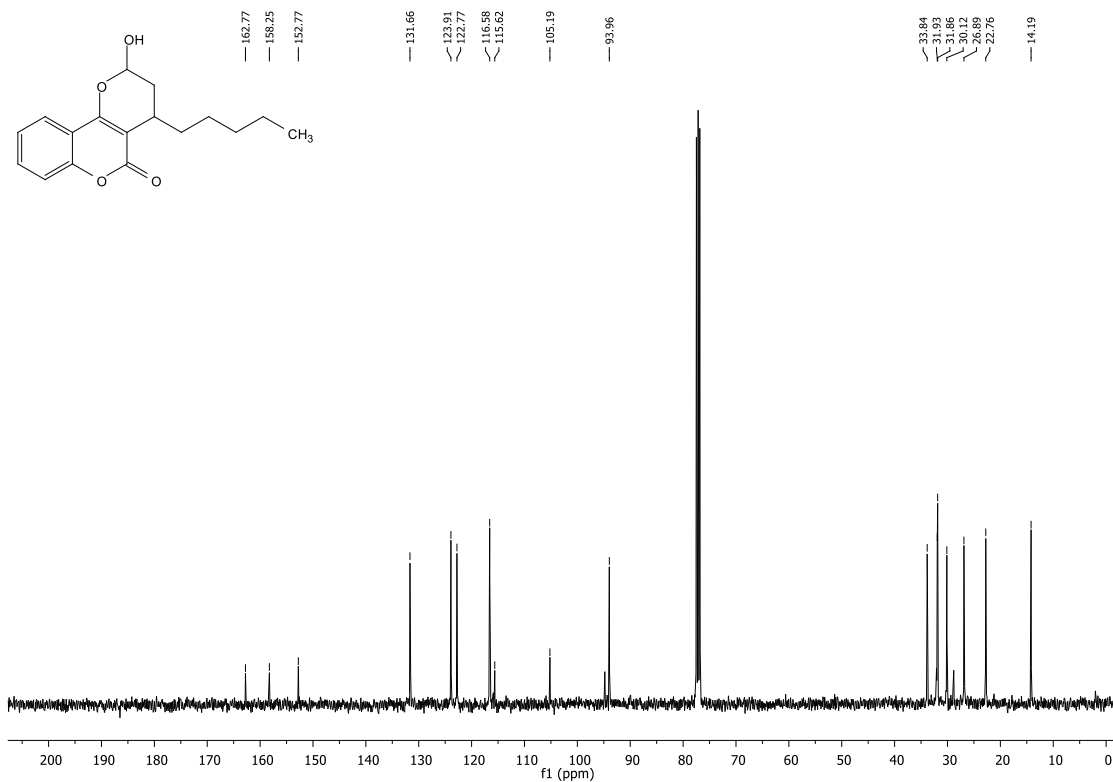
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	7.754	2523379	144862	14.418	15.294
2	8.789	14977625	802294	85.582	84.706
Total		17501004	947156	100.000	100.000

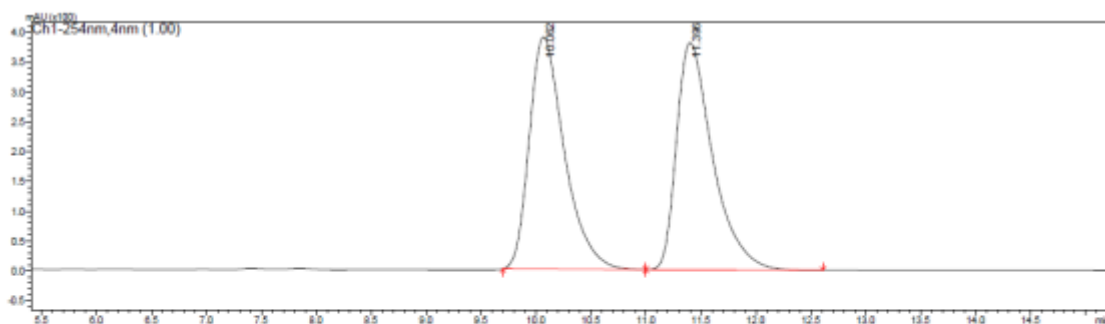
Cromatograma do composto **4b** assimétrico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ¹H do composto **4c** em CDCl₃ a 400 MHz.



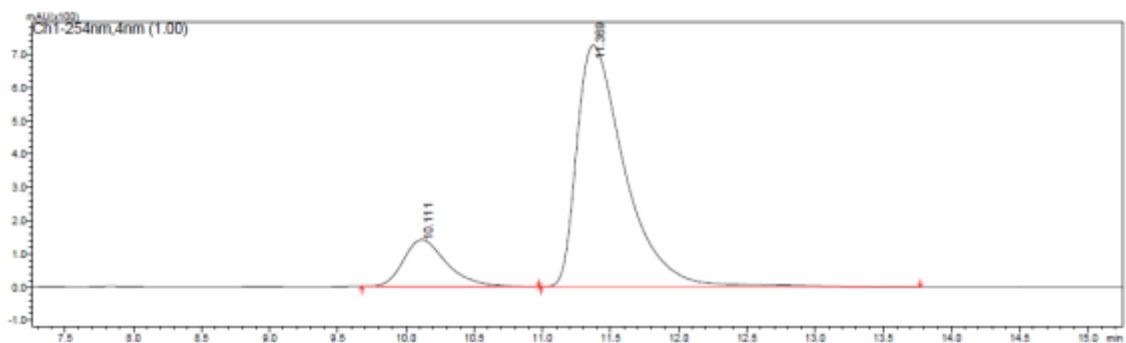
Espectro de RMN ^{13}C do composto **4c** em CDCl_3 a 100 MHz.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.062	8644914	389101	49.812	50.537
2	11.396	8710003	380831	50.188	49.463
Total		17354917	769931	100.000	100.000

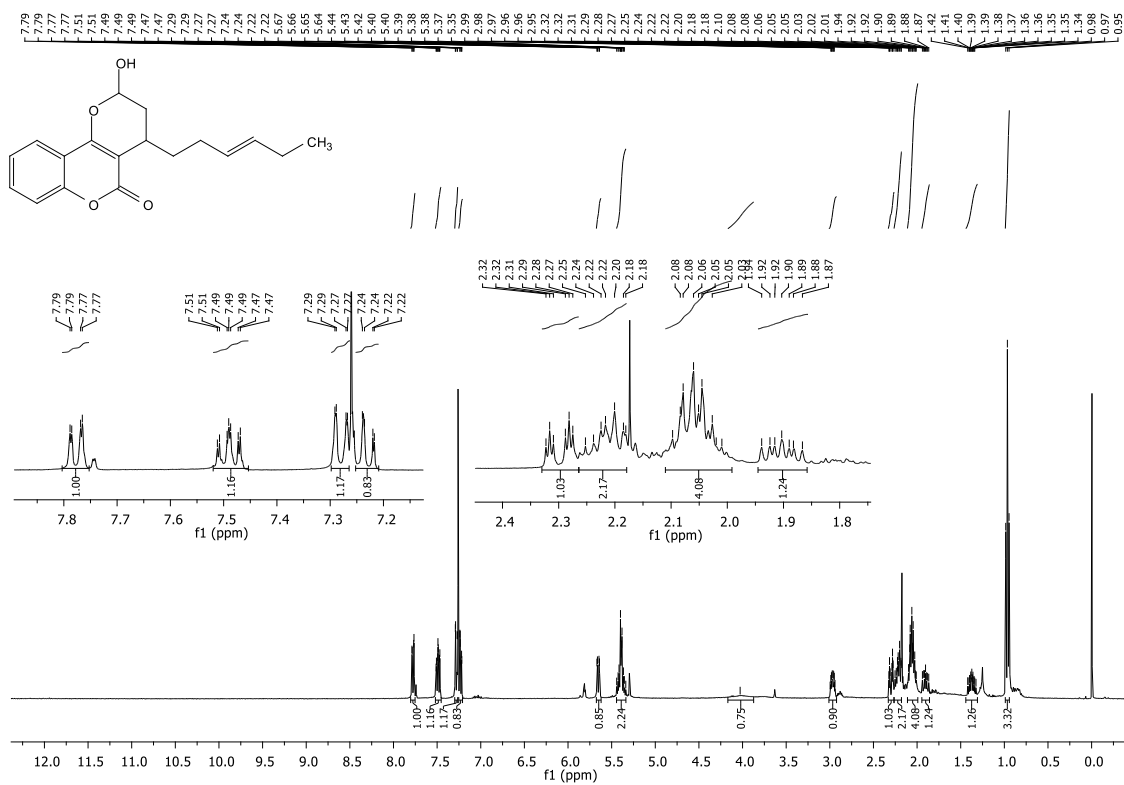
Cromatograma do composto **4c** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



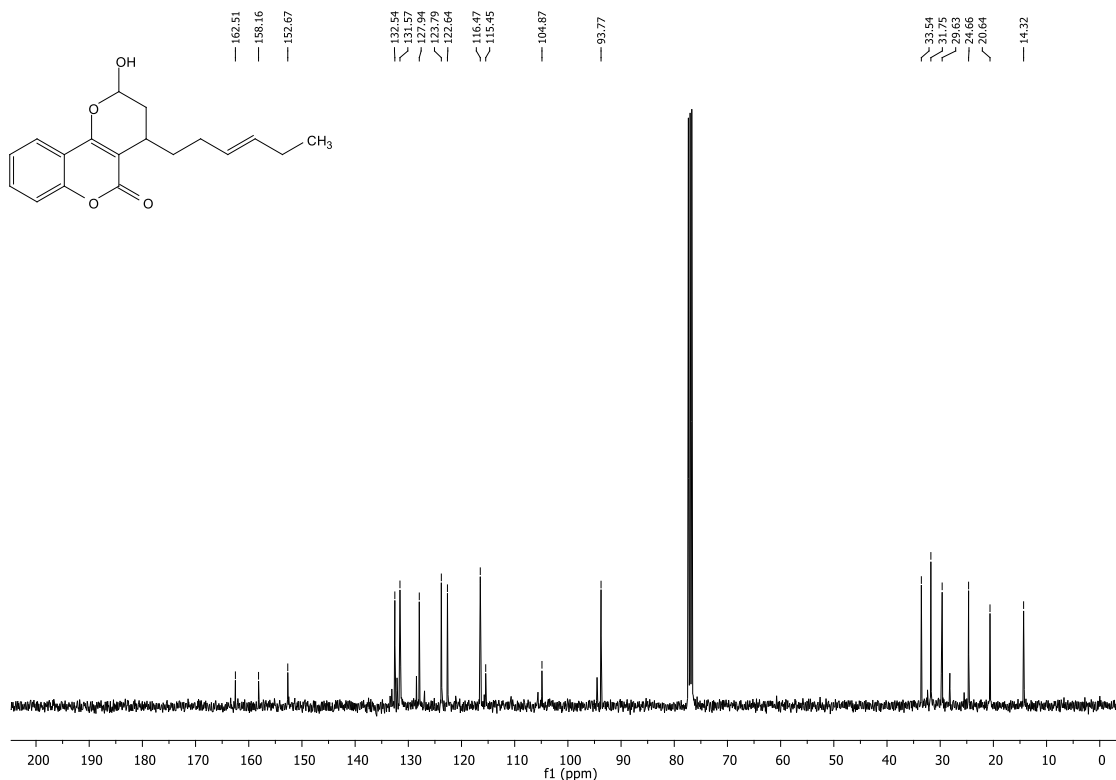
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.111	3084643	140352	14.778	16.211
2	11.369	17789049	725413	85.222	83.789
Total		20873692	865765	100.000	100.000

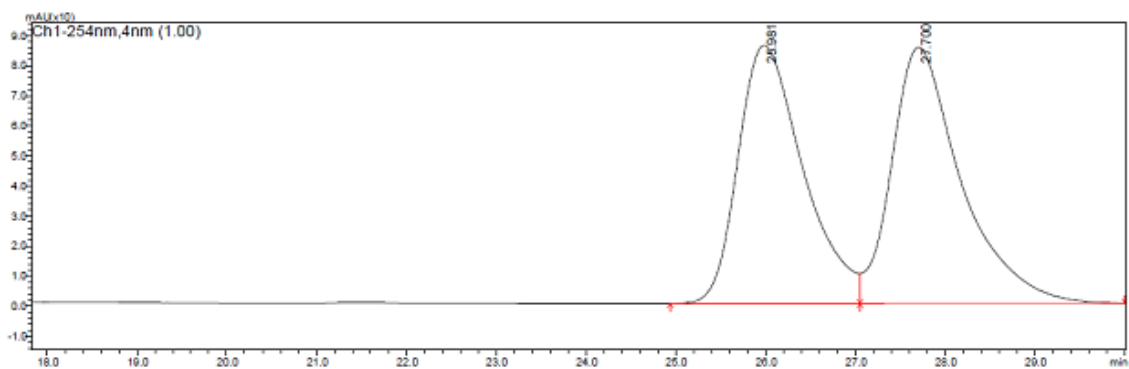
Cromatograma do composto **4c** assimétrico, coluna AD-H, hexano: isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ^1H do composto **4d** em CDCl_3 a 400 MHz.



Espectro de RMN ^{13}C do composto **4d** em CDCl_3 a 100 MHz.

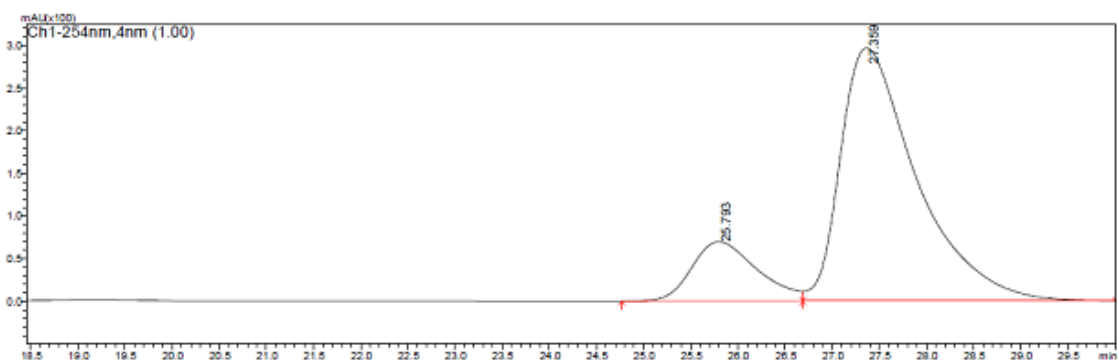


PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	25.981	4328739	85844	48.629	50.212
2	27.700	4572804	85119	51.371	49.788
Total		8901543	170962	100.000	100.000

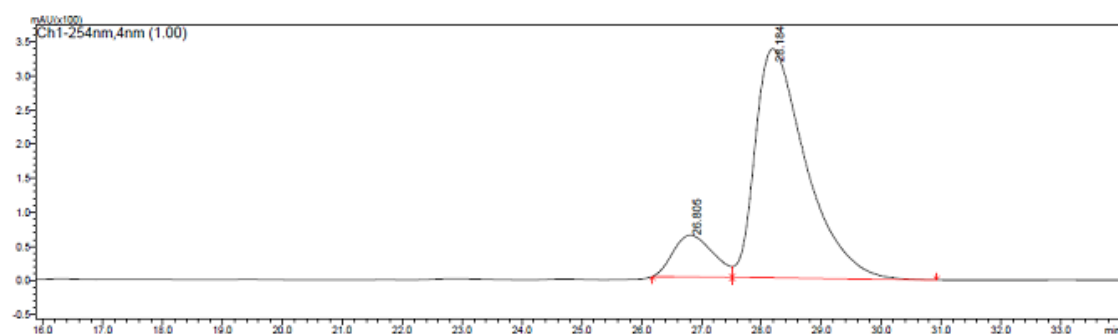
Cromatograma do composto **4d** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (95:5).



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	25.793	3345361	69518	16.753	18.988
2	27.359	16623381	296592	83.247	81.012
Total		19968742	366110	100.000	100.000

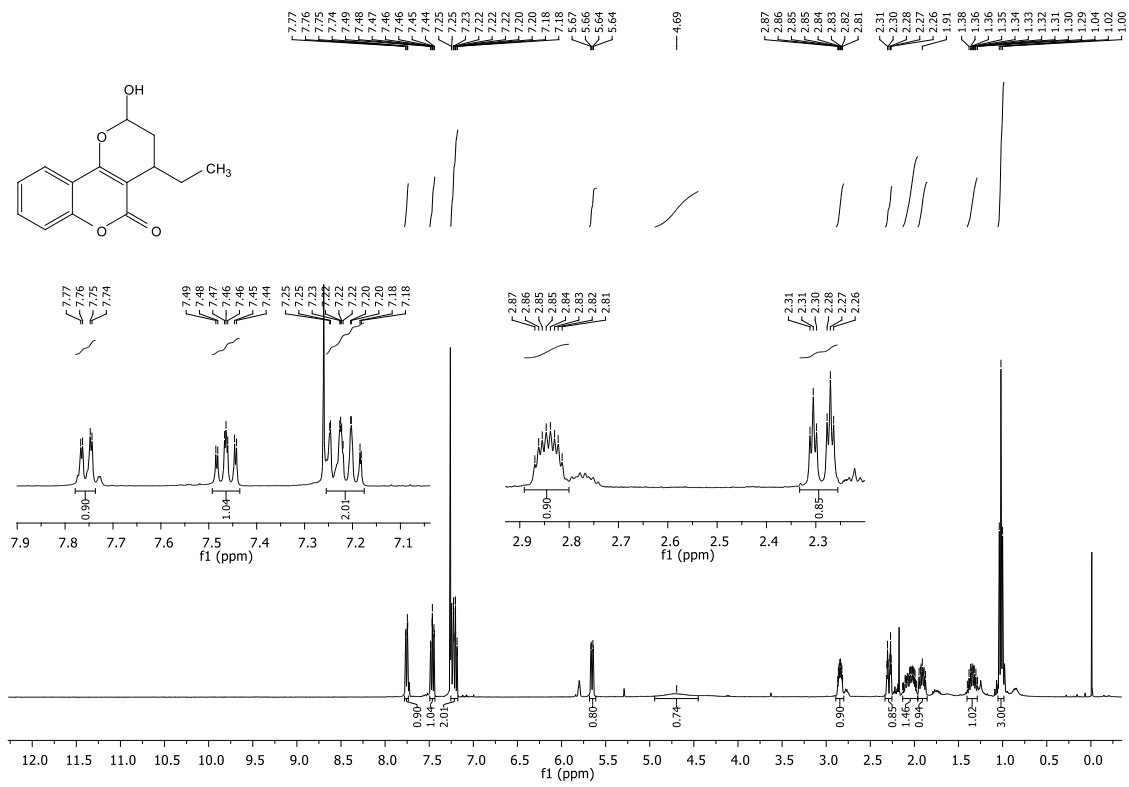
Cromatograma do composto **4d** assimétrico sintetizado em 16h, via metodologia convencional, coluna AD-H, hexano:isopropanol (95:5).



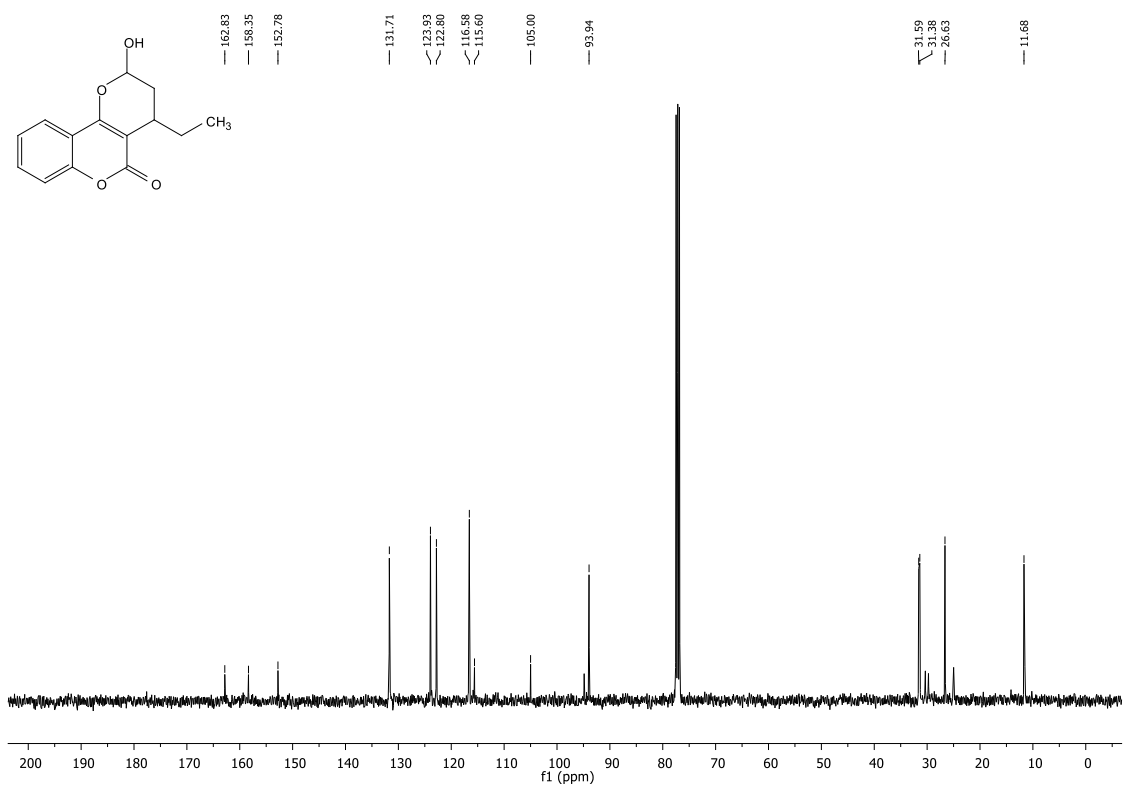
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	26.805	2832357	61190	12.523	15.411
2	28.184	19784759	335869	87.477	84.589
Total		22617115	397059	100.000	100.000

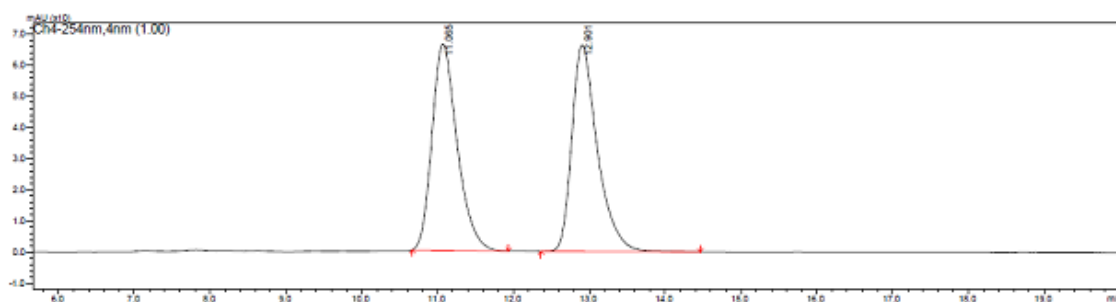
Cromatograma do composto **4d** assimétrico sintetizado em 30 min., via microondas acoplado ao colmate, coluna AD-H, hexano: isopropanol (95:5).



Espectro de RMN ¹H do composto **4e** em CDCl₃ a 400 MHz.



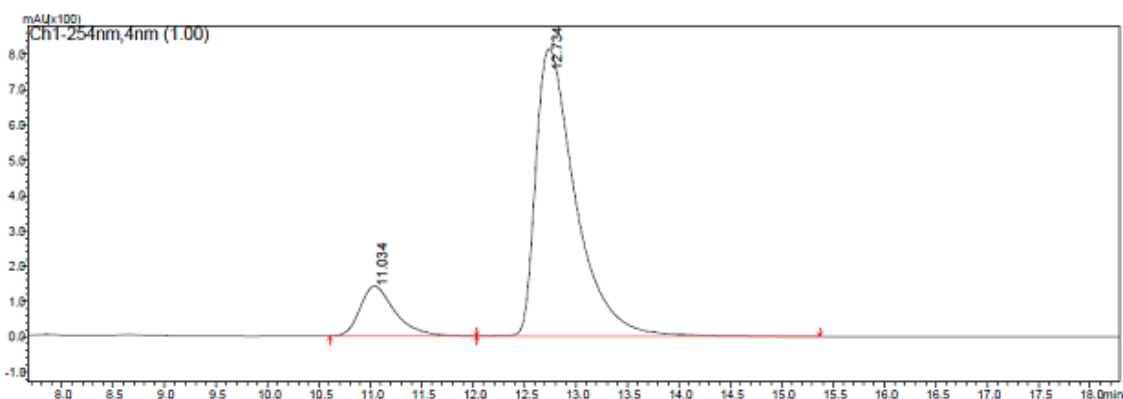
Espectro de RMN ¹³C do composto **4e** em CDCl₃, a 100 MHz.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	11.065	1524008	66167	49.533	49.997
2	12.901	1552744	66176	50.467	50.003
Total		3076752	132343	100.000	100.000

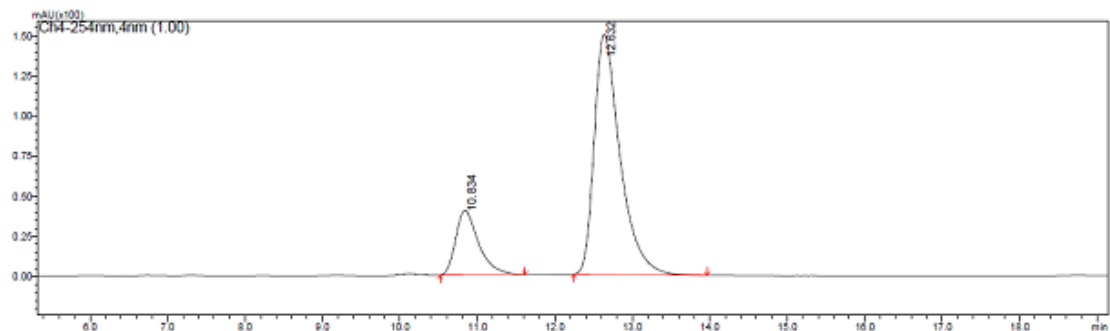
Cromatograma do composto **4e** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	11.034	3349717	141177	13.305	14.775
2	12.734	21825992	814334	86.695	85.225
Total		25175709	955510	100.000	100.000

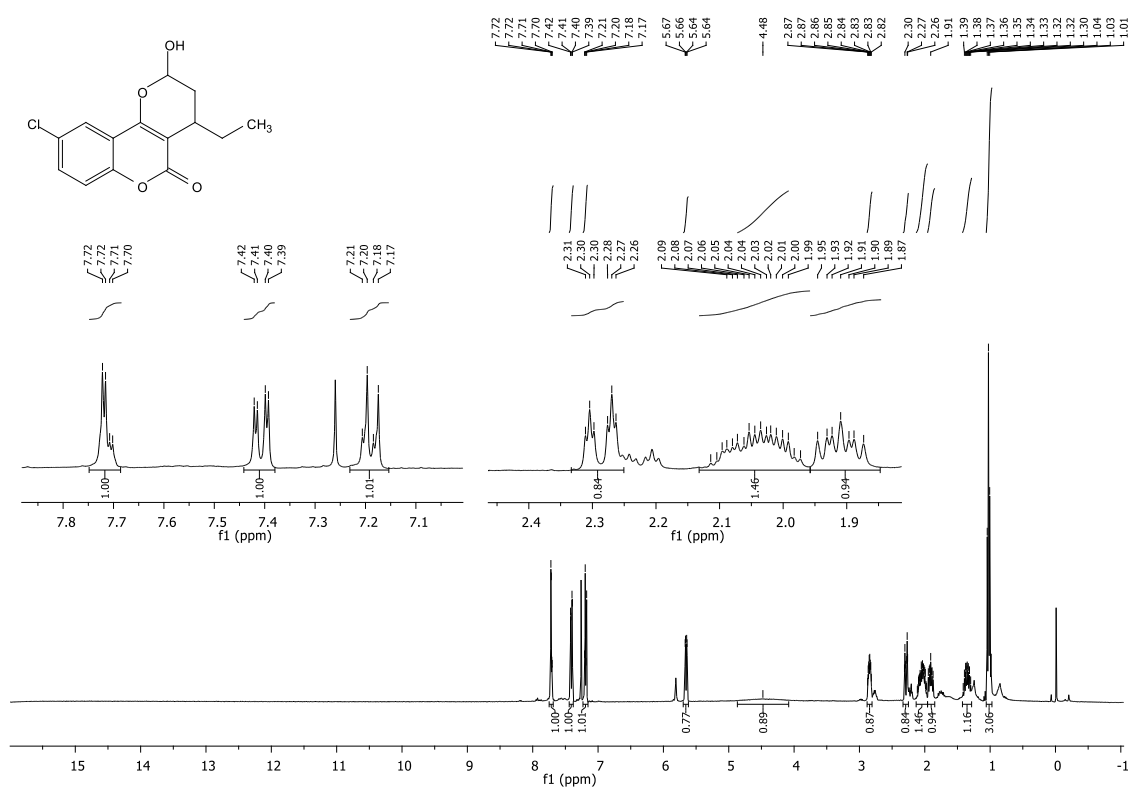
Cromatograma do composto **4e** assimétrico sintetizado em 16h, via metodologia convencional, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



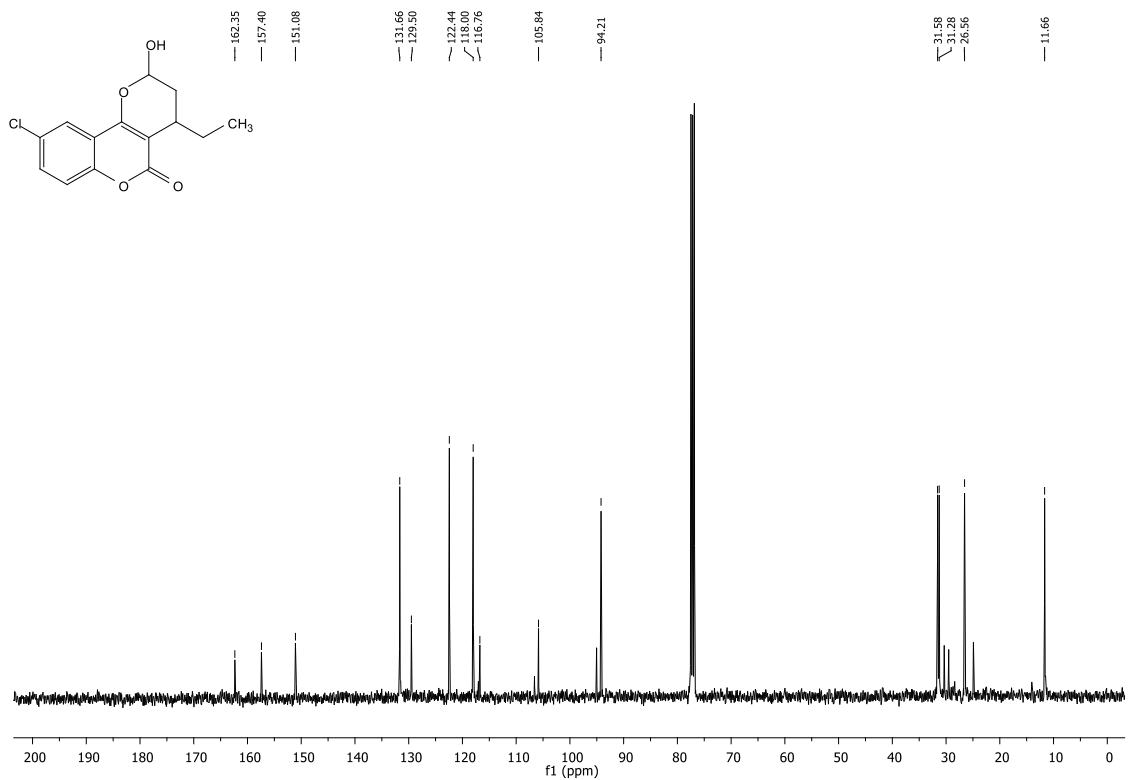
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.834	829423	40188	19.273	21.169
2	12.632	3474234	149653	80.727	78.831
Total		4303657	189841	100.000	100.000

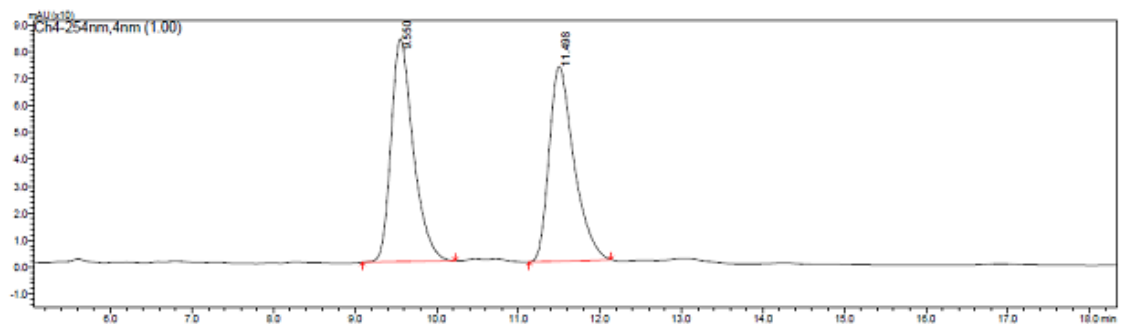
Cromatograma do composto **4e** assimétrico sintetizado em 30 min, via micro-ondas acoplado ao coolmate, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ¹H do composto **4f** em CDCl₃, a 400 MHz.



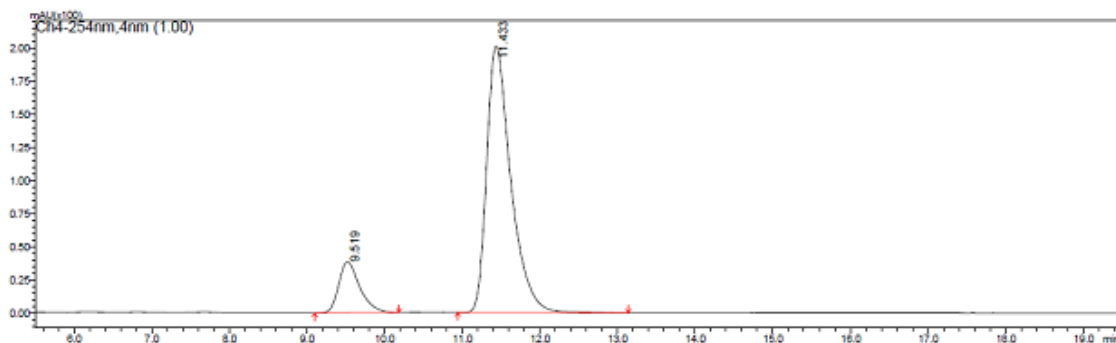
Espectro de RMN ^{13}C do composto **4f** em CDCl_3 a 100 MHz.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.550	1568248	82776	50.573	53.391
2	11.498	1532704	72262	49.427	46.609
Total		3100953	155038	100.000	100.000

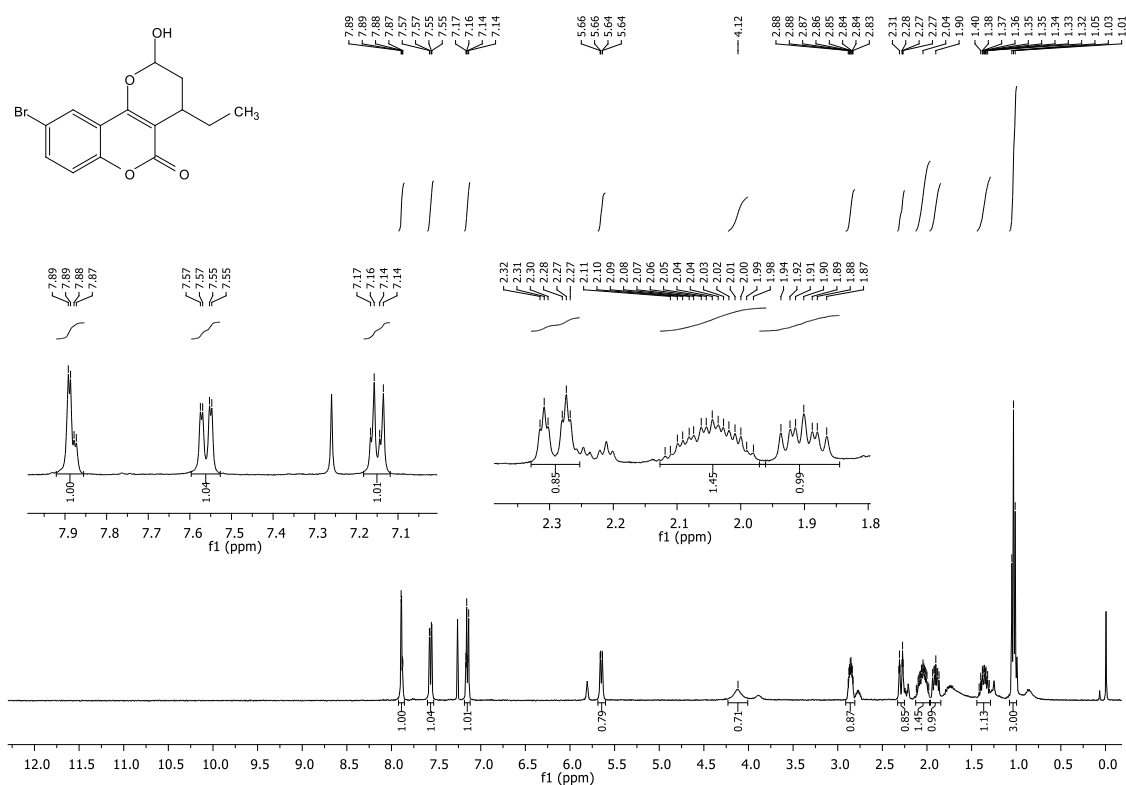
Cromatograma do composto **4f** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



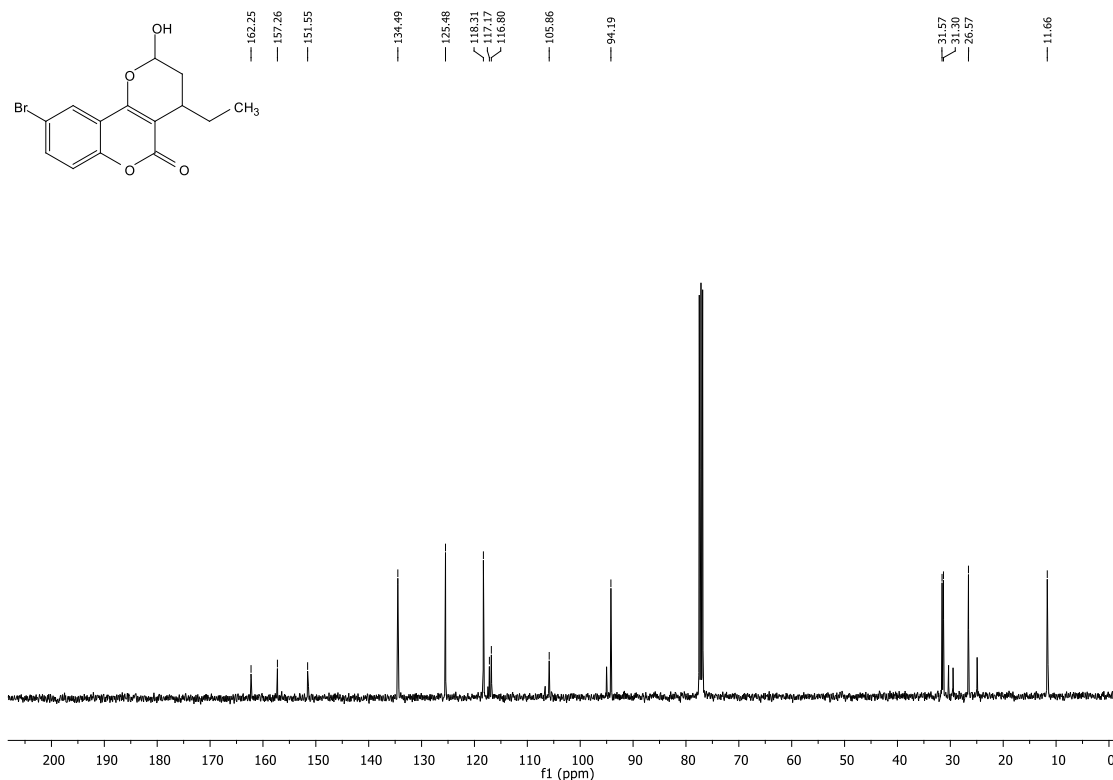
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.519	719481	38401	14.180	16.065
2	11.433	4354482	200642	85.820	83.935
Total		5073962	239043	100.000	100.000

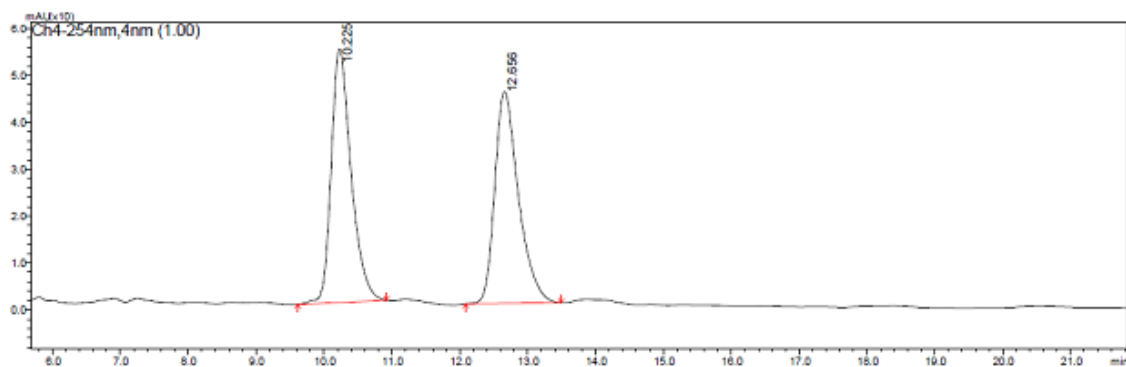
Cromatograma do composto **4f** assimétrico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ¹H do composto **4g** em CDCl₃ a 400 MHz.



Espectro de RMN ¹³ do composto **4g** em CDCl₃ a 100 MHz.

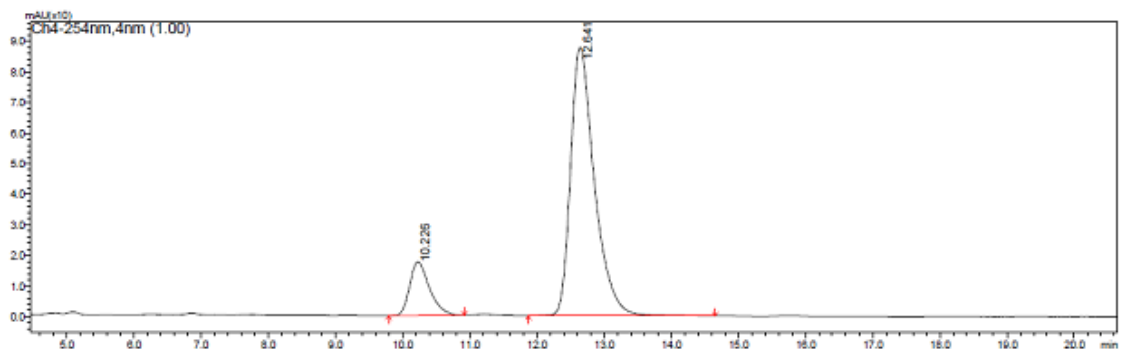


PeakTable

PDA Ch4 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.225	1104510	54075	50.238	54.495
2	12.656	1094024	45156	49.762	45.505
Total		2198534	99231	100.000	100.000

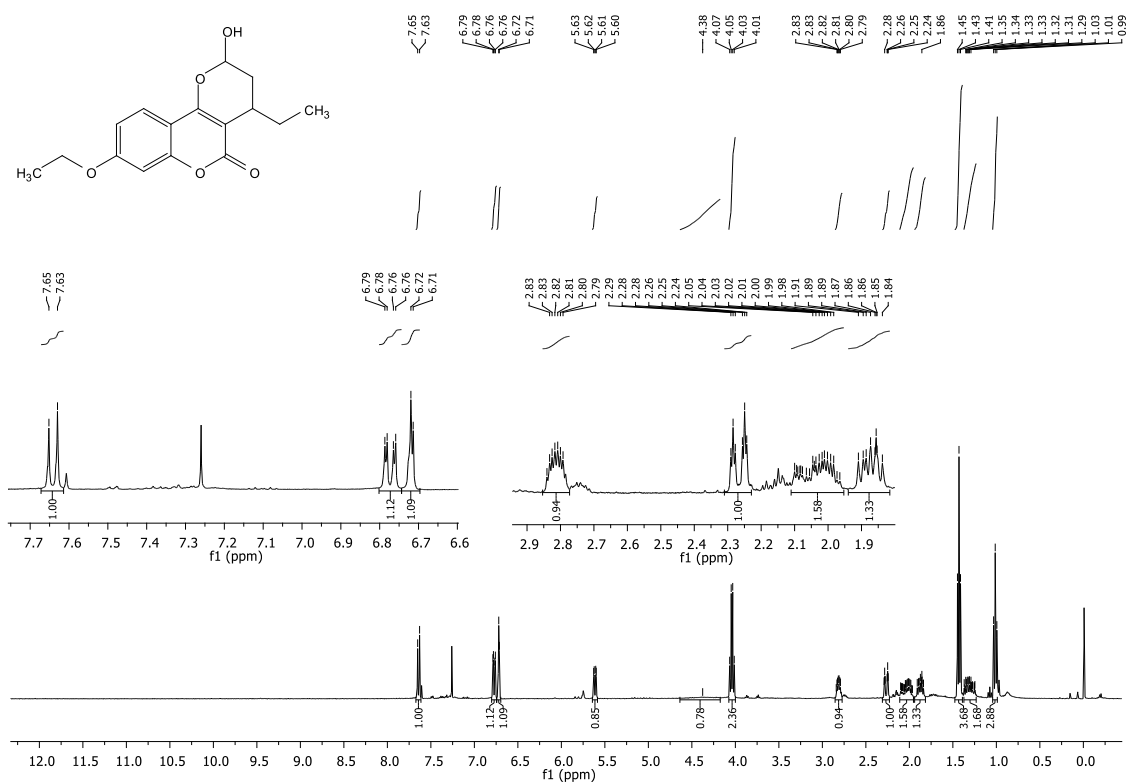
Cromatograma do composto **4g** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



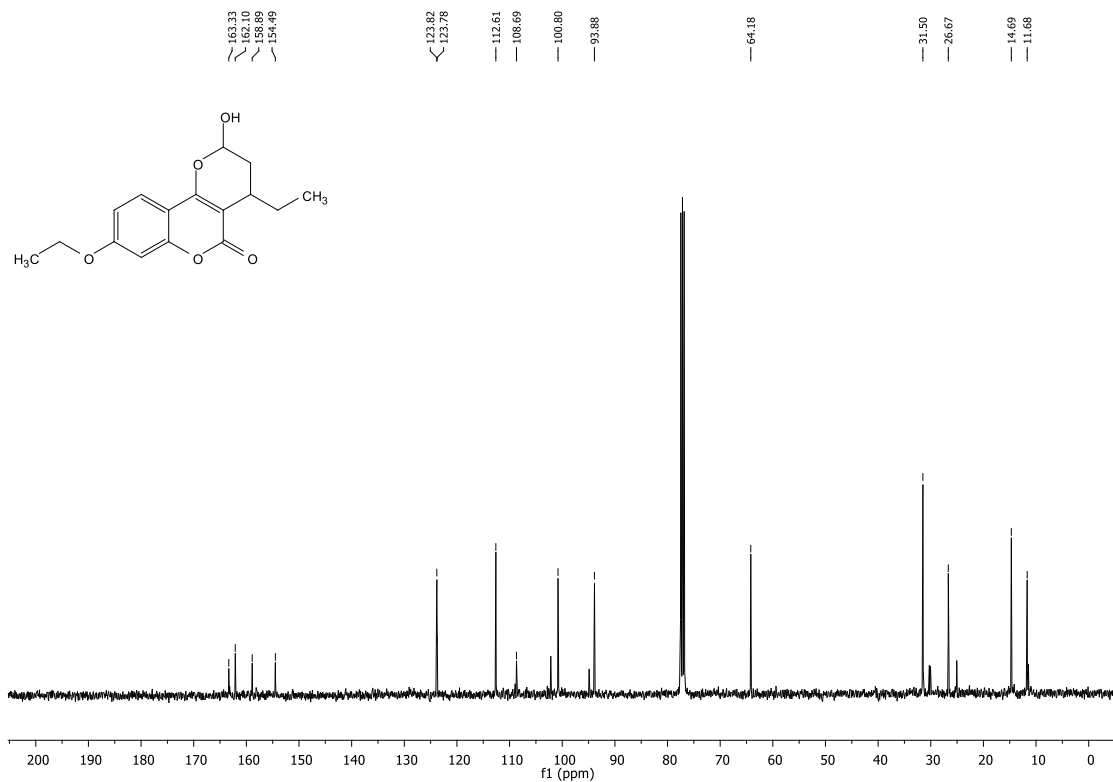
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.226	360986	17629	14.223	16.726
2	12.641	2177032	87770	85.777	83.274
Total		2538019	105398	100.000	100.000

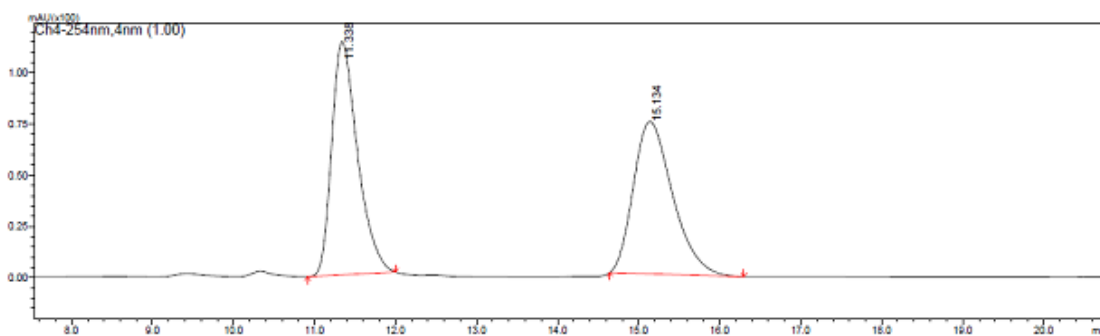
Cromatograma do composto **4g** assimétrico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ^1H do composto **4h** em CDCl_3 a 400 MHz.



Espectro de RMN ^{13}C do composto **4h** em CDCl_3 a 100 MHz.

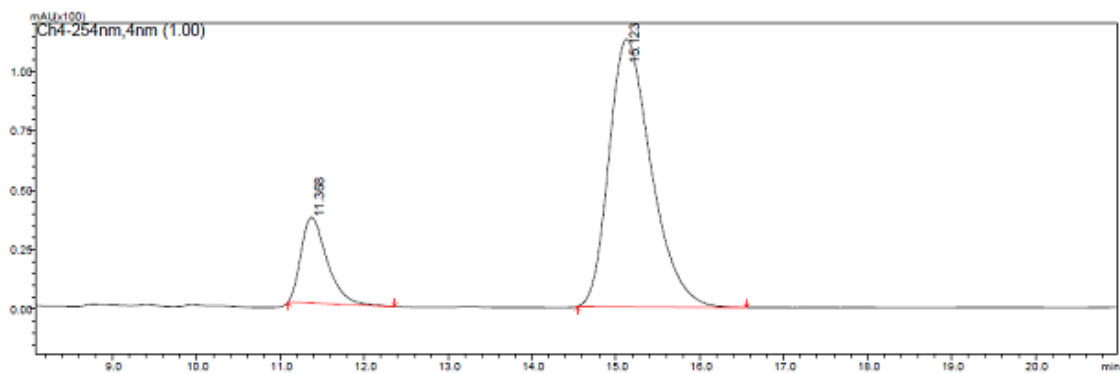


PeakTable

PDA Ch4 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	11.338	2521511	113769	50.168	60.517
2	15.134	2504668	74226	49.832	39.483
Total		5026179	187996	100.000	100.000

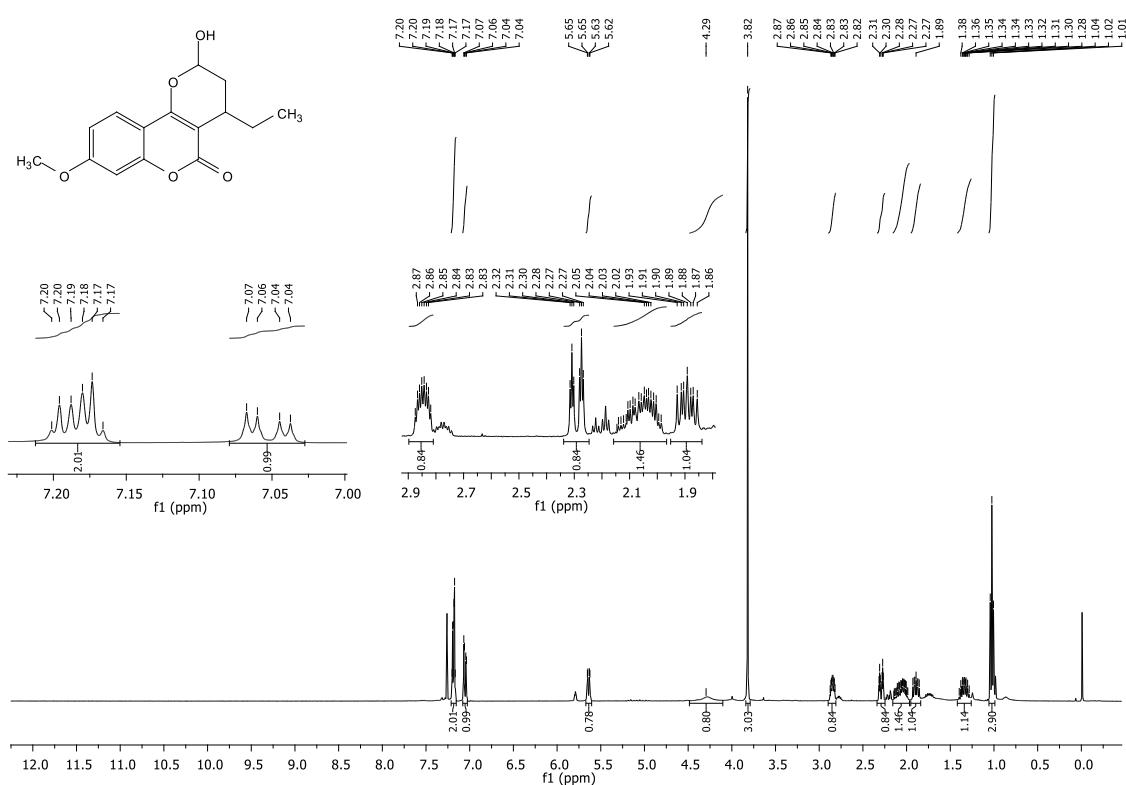
Cromatograma do composto **4h** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



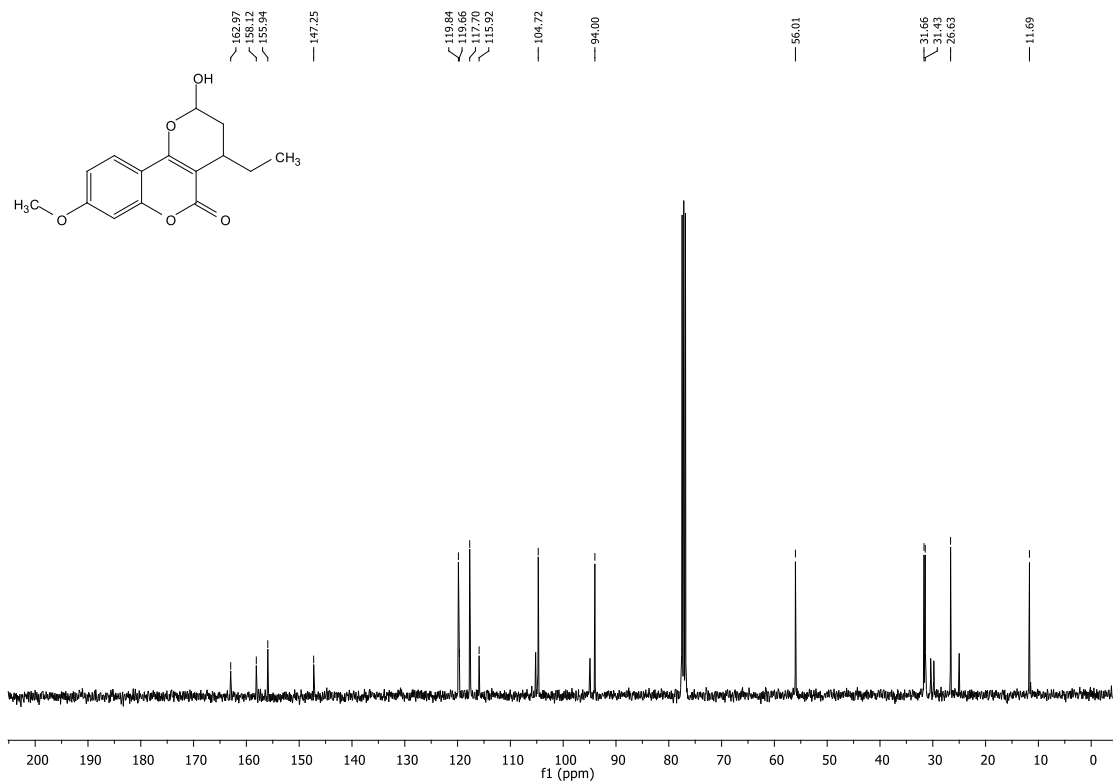
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	11.368	780482	36045	16.524	24.231
2	15.123	3942910	112711	83.476	75.769
Total		4723392	148756	100.000	100.000

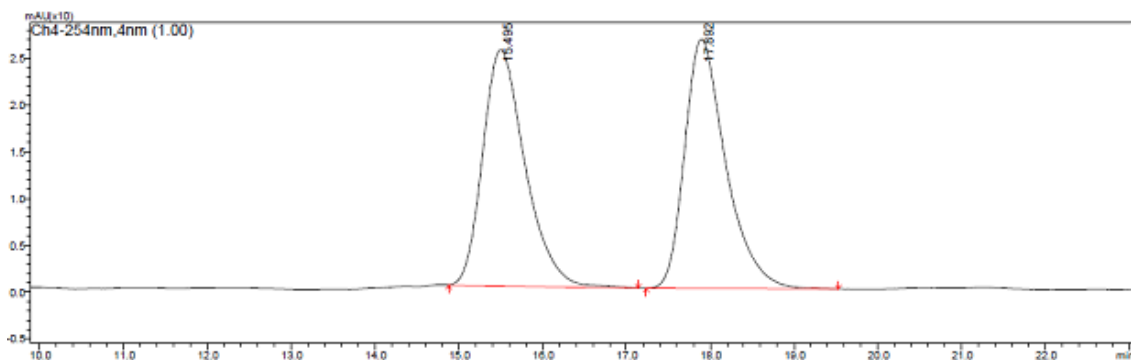
Cromatograma do composto **4h** assimétrico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ¹H do composto **4i** em CDCl₃ a 400 MHz.



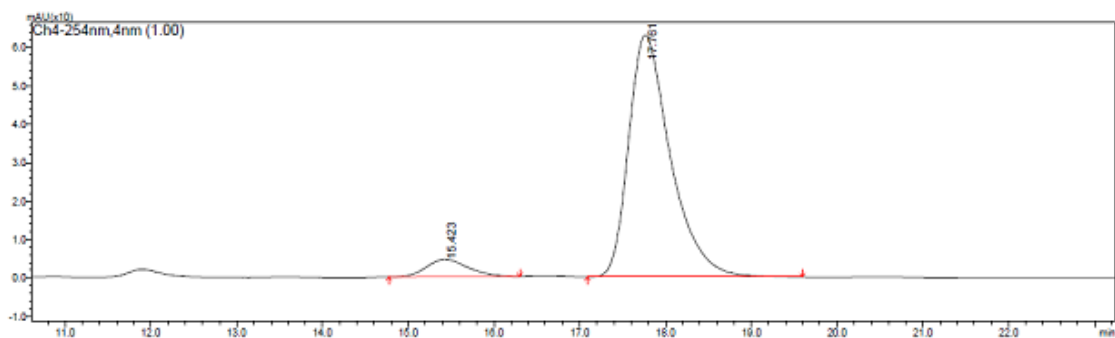
Espectro de RMN ^{13}C do composto **4i** em CDCl_3 a 100 MHz.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	15.495	891508	25258	49.481	48.697
2	17.892	910216	26610	50.519	51.303
Total		1801725	51868	100.000	100.000

Cromatograma do composto **4i** racêmico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).

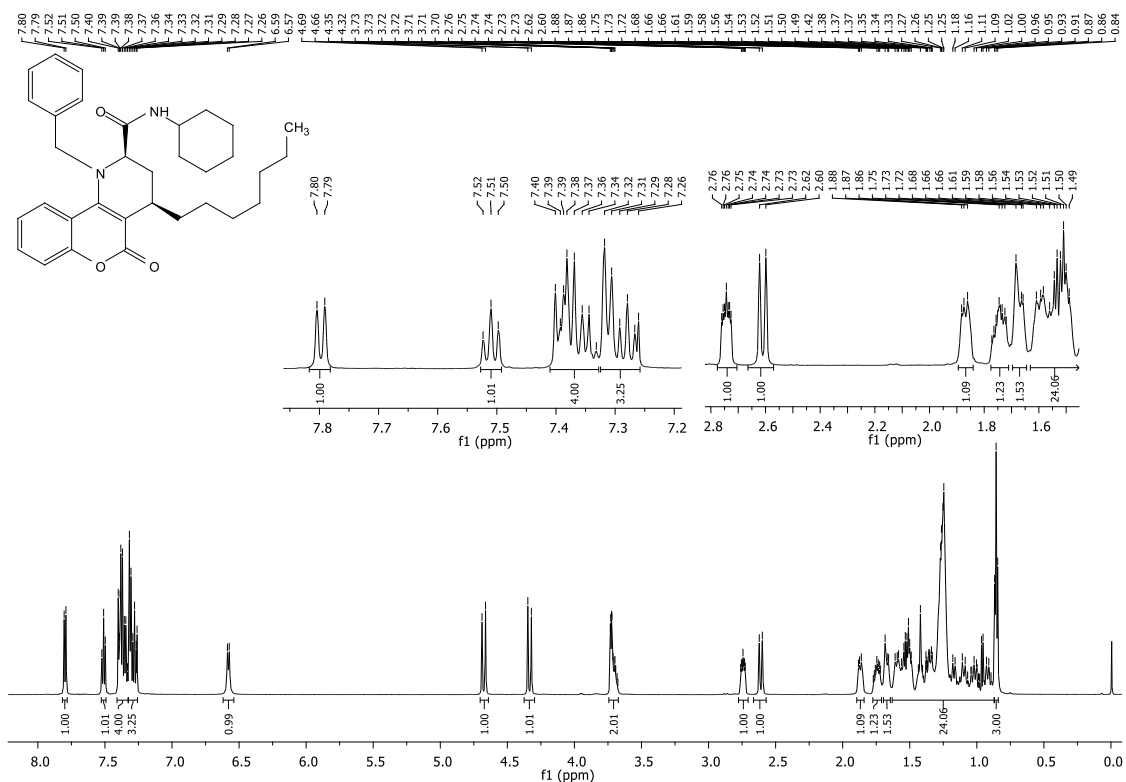


PeakTable

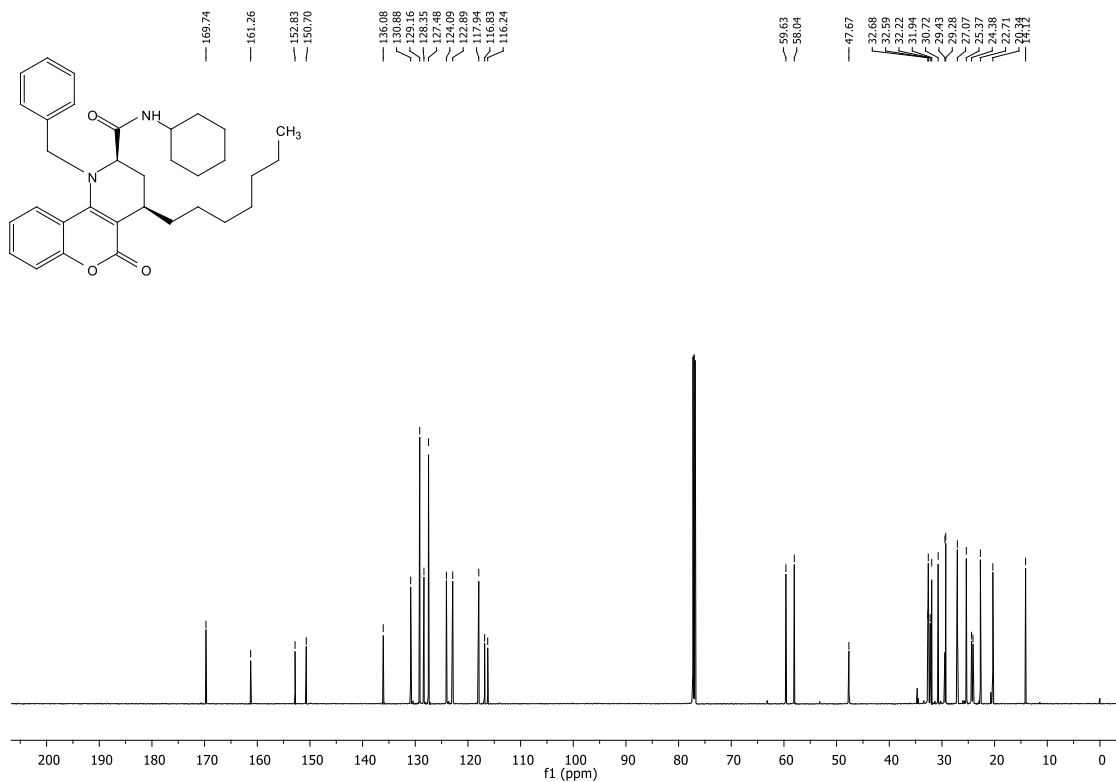
PDA Ch4 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	15.423	151617	4535	6.637	6.724
2	17.761	2132940	62911	93.363	93.276
Total		2284557	67446	100.000	100.000

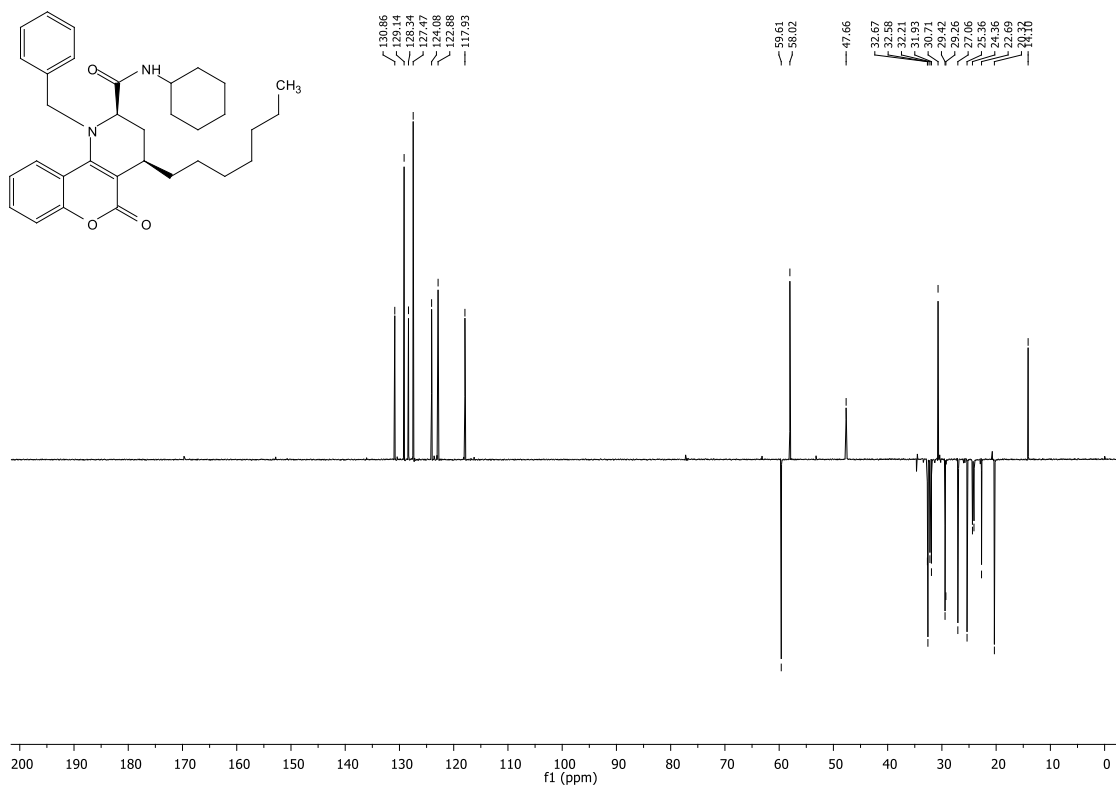
Cromatograma do composto **4i** assimétrico, coluna AD-H, hexano:isopropanol (90:10).



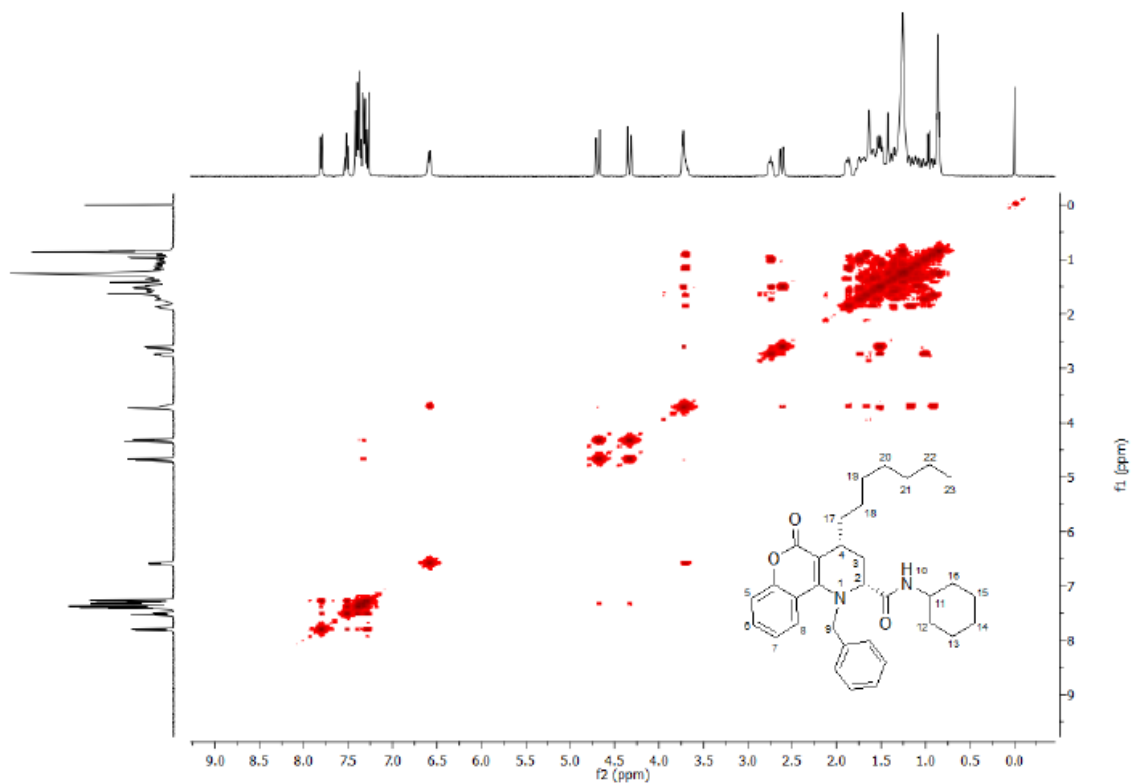
Espectro de RMN ^1H do diastereoisômero cis de **6a** em CDCl_3 a 400 MHz.



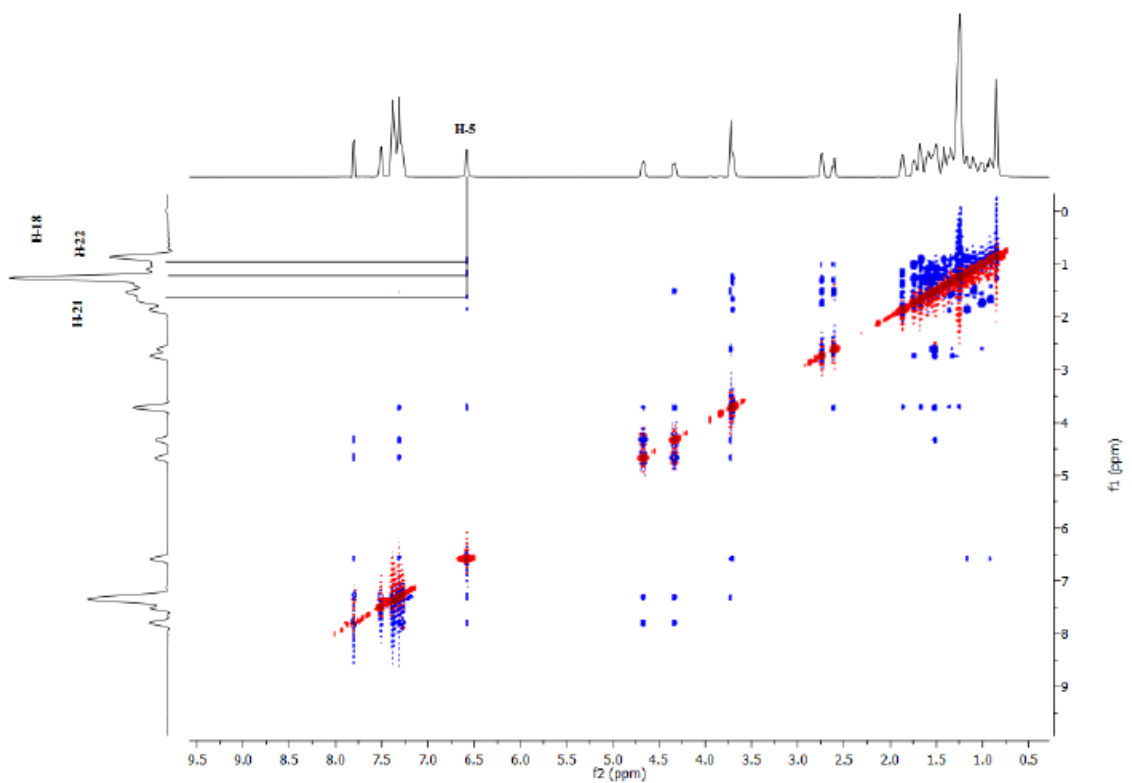
Espectro de RMN ^{13}C do diastereoisômero cis de **6a** em CDCl_3 a 100 MHz.



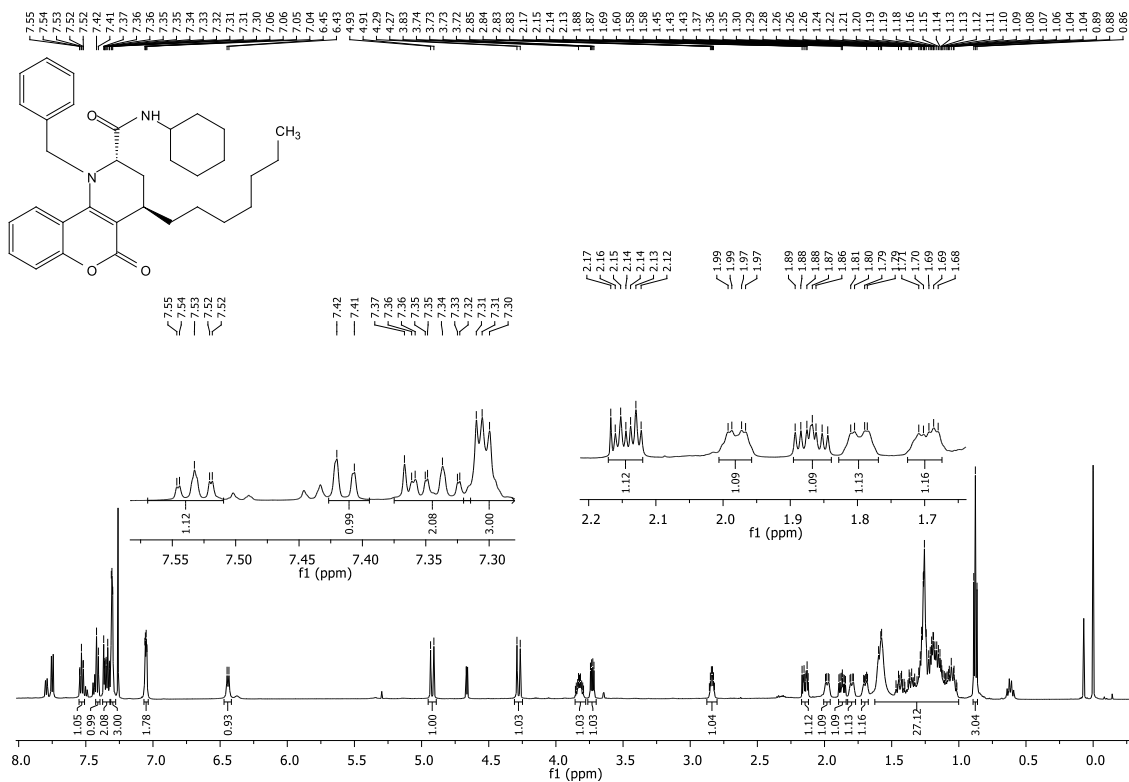
Espectro de DEPT-35 do diastereoisômero cis de **6a** em CDCl_3 a 100 MHz.



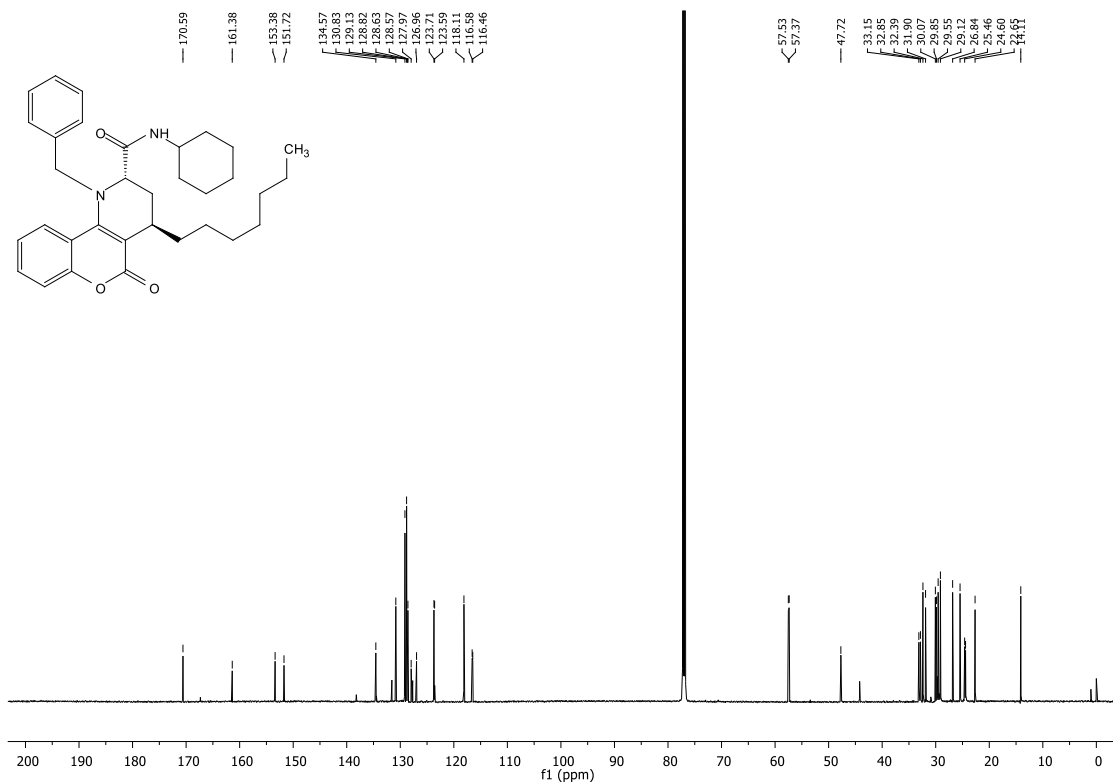
Espectro de COSY do diastereoisômero cis de **6a** em CDCl₃ a 100 MHz.



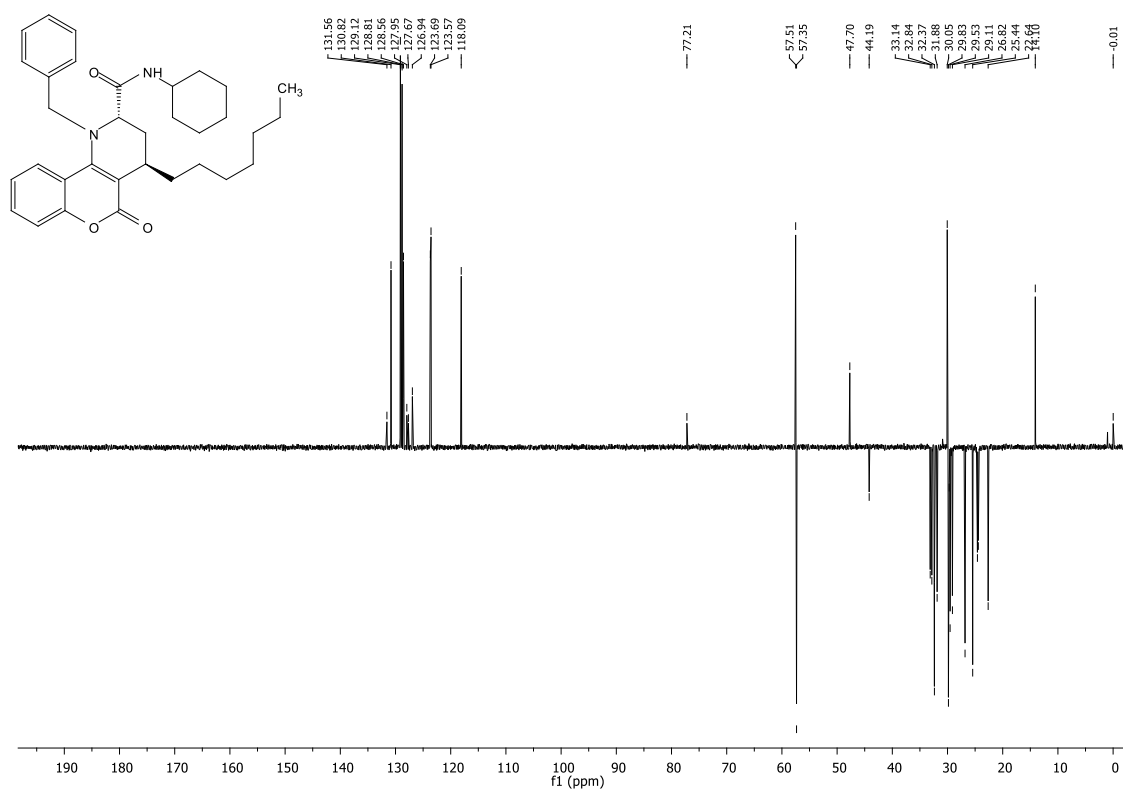
Espectro de NOESY do diastereoisômero cis de **6a** em CDCl₃ a 100 MHz.



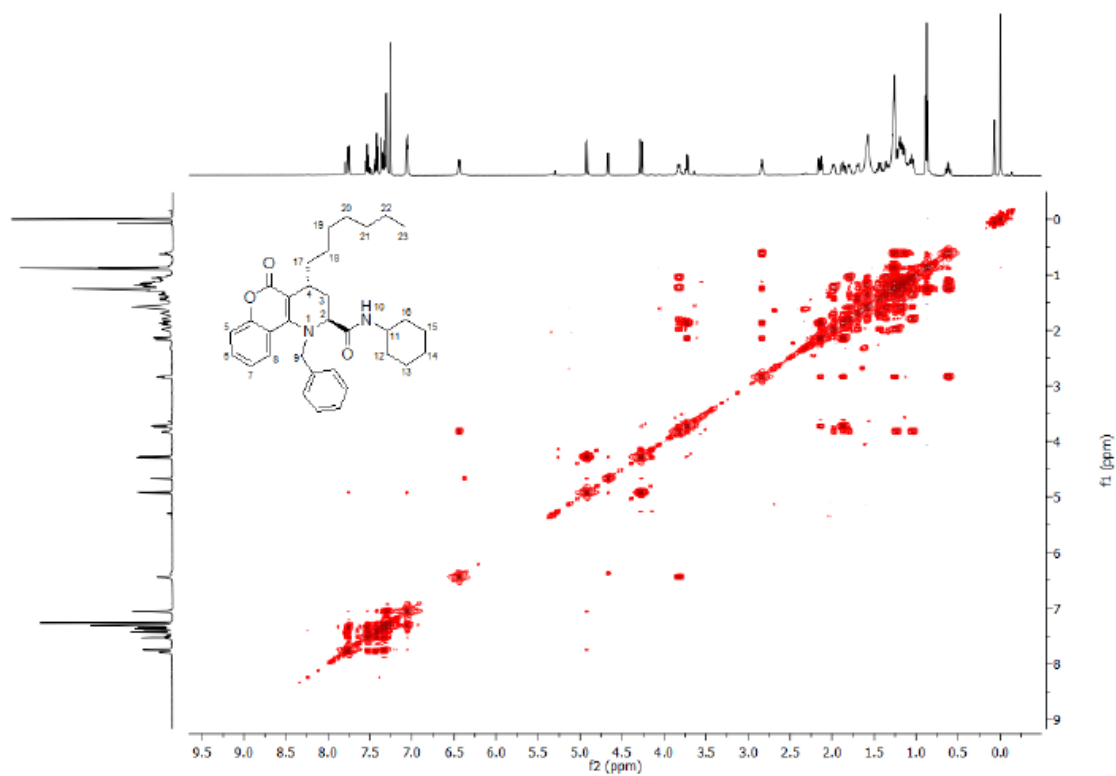
Espectro de RMN ^1H do diastereoisômero trans de **6a** em CDCl_3 a 400 MHz.



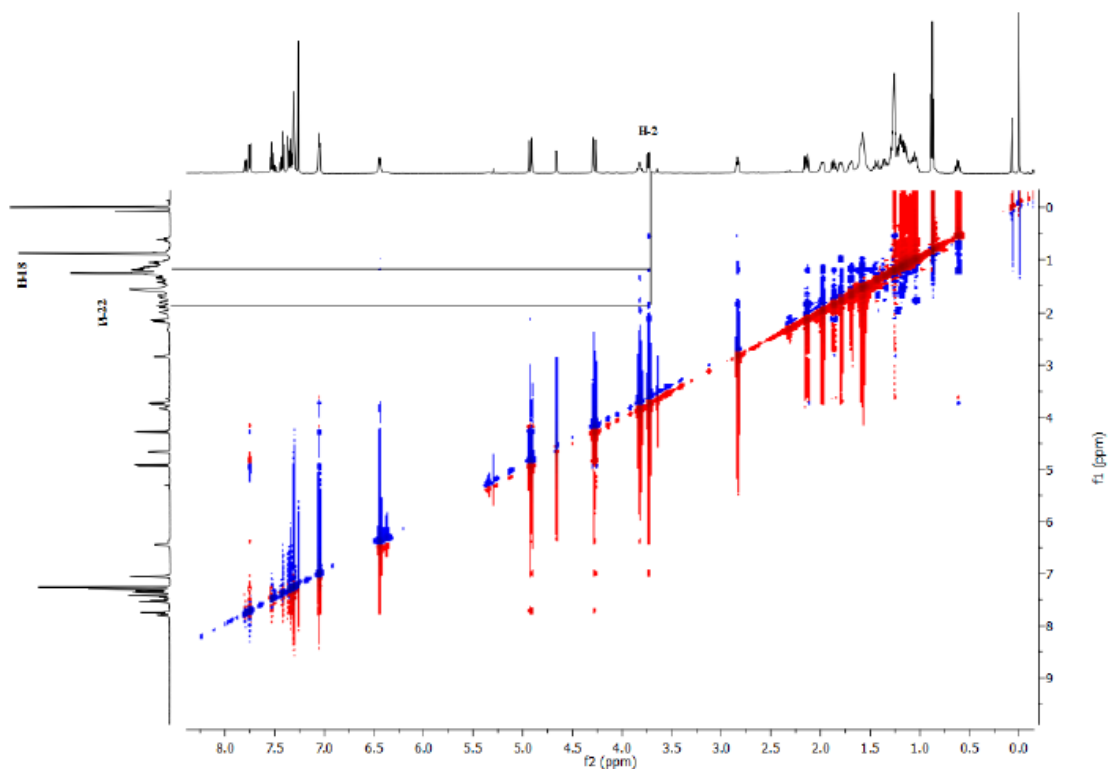
Espectro de RMN ^{13}C do diastereoisômero trans de **6a** em CDCl_3 a 151 MHz.



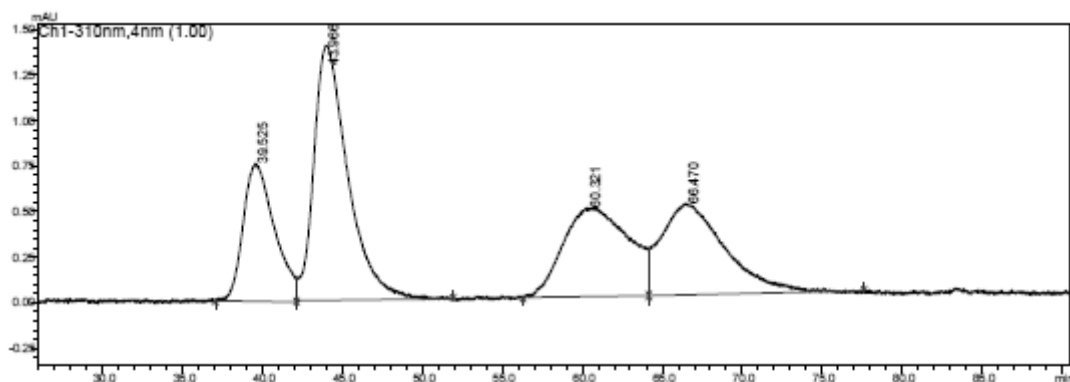
Espectro de DEPT-35 do diastereoisômero trans de **6a** em CDCl_3 a 151 MHz.



Espectro de COSY do diastereoisômero trans de **6a** em CDCl_3 a 100 MHz.



Espectro de NOESY do diastereoisômero *trans* de **6a** em CDCl₃ a 100 MHz.

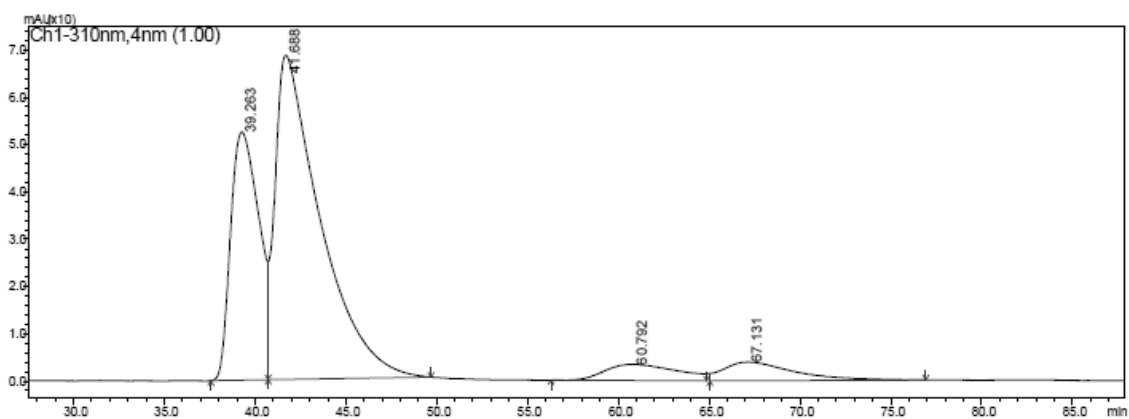


PeakTable

PDA Ch1 310nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	39.525	102852	755	17.570	24.055
2	43.966	207203	1397	35.396	44.474
3	60.321	138023	488	23.578	15.532
4	66.470	137316	501	23.457	15.939
Total		585394	3141	100.000	100.000

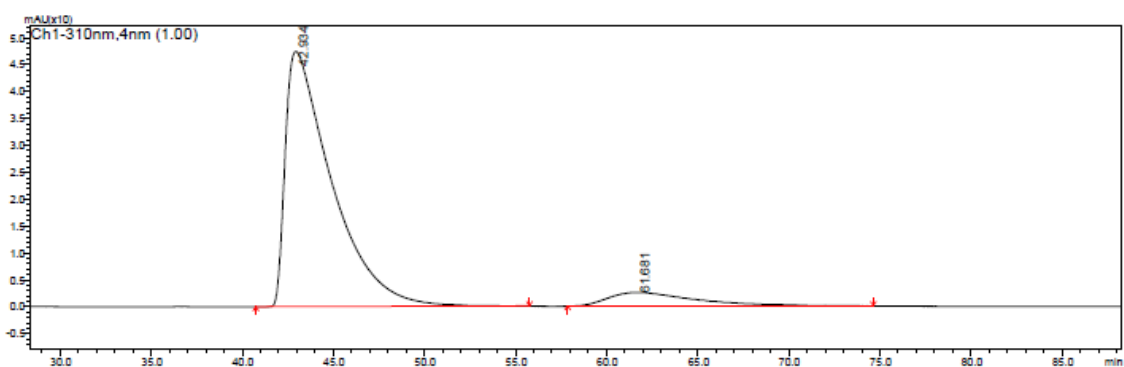
Cromatograma do composto **6a** racêmico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (98:2).



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	39.263	5699408	51975	29.429	40.838
2	41.688	11658494	67988	60.198	53.420
3	60.792	938438	3387	4.846	2.661
4	67.131	1070527	3920	5.528	3.080
Total		19366867	127271	100.000	100.000

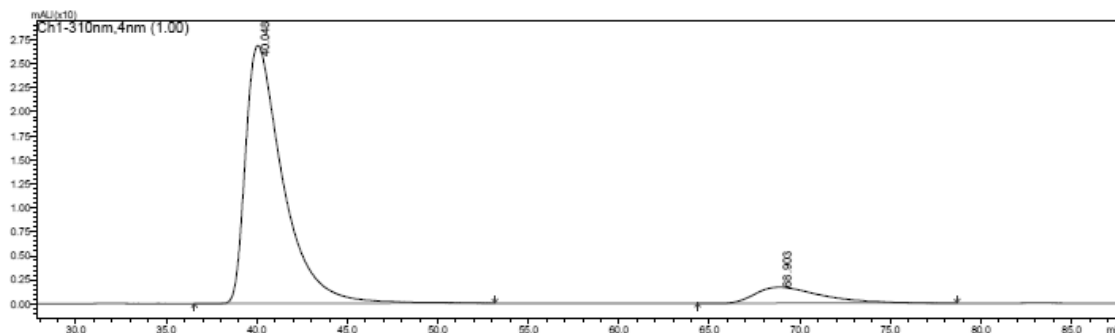
Cromatograma do composto **6a** assimétrico (mistura de diastereoisômeros),
coluna OD-H, hexano:isopropanol (98:2).



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	42.934	8372460	47435	91.396	95.034
2	61.681	788162	2479	8.604	4.966
Total		9160622	49914	100.000	100.000

Cromatograma do composto **6a** assimétrico (diastereoisômero cis) coluna OD-
H, hexano:isopropanol (98:2).

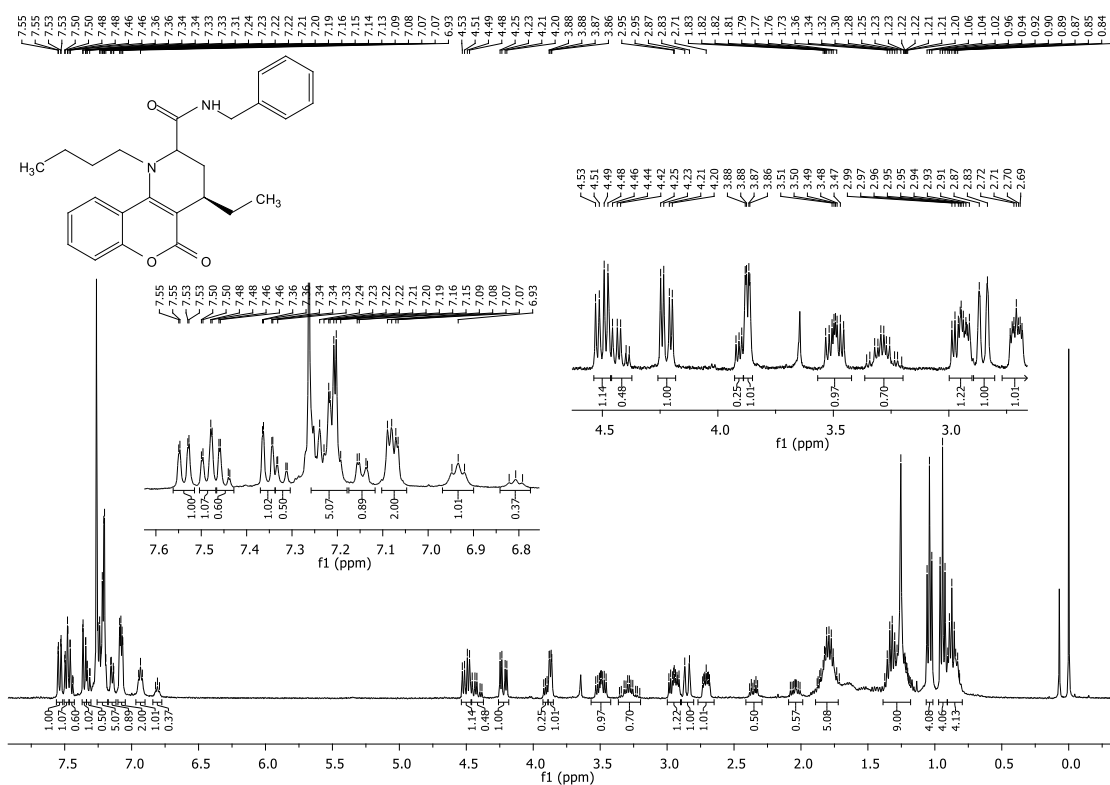


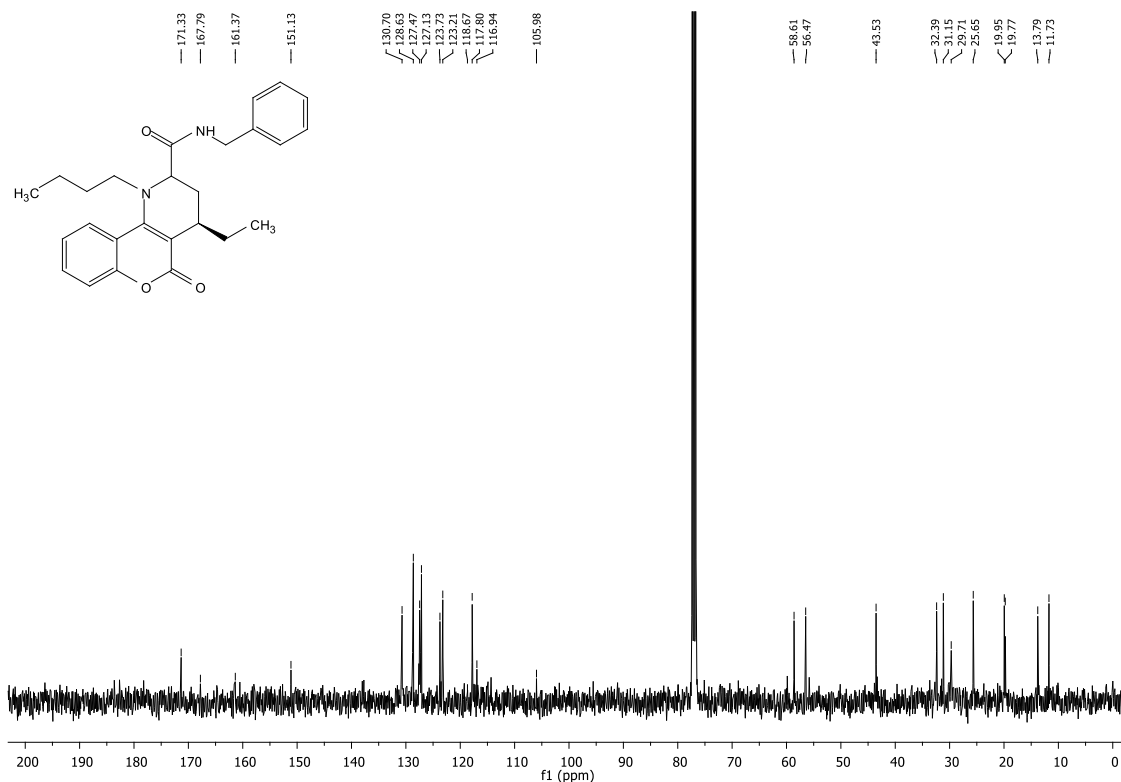
PeakTable

PDA Ch1 310nm 4nm

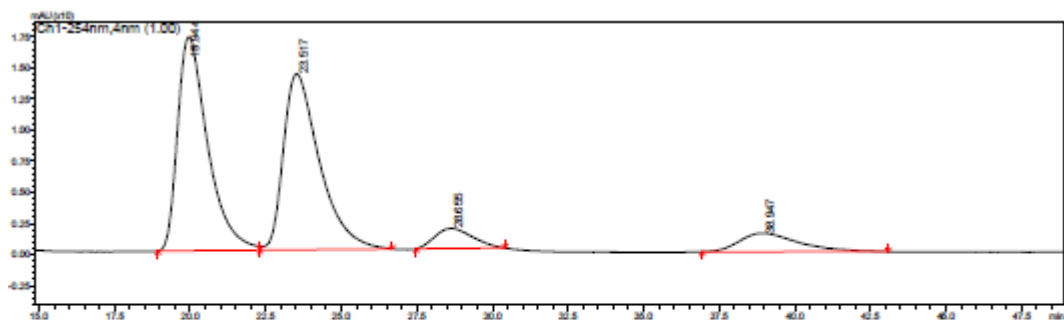
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	40.048	3848044	26862	90.520	94.197
2	68.903	402993	1655	9.480	5.803
Total		4251037	28517	100.000	100.000

Cromatograma do composto **6a** assimétrico (diastereoisômero trans) coluna OD-H, hexano:isopropanol (98:2).





Espectro de RMN ^{13}C do composto **6b** em CDCl_3 a 100 MHz.

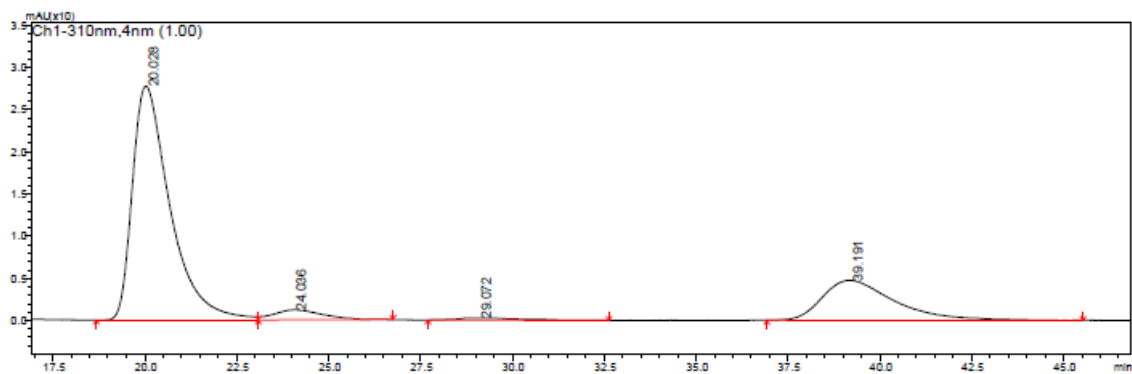


PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	19.944	1185760	17164	43.871	49.888
2	23.517	1174703	14141	43.462	41.102
3	28.655	139843	1616	5.174	4.697
4	38.947	202538	1484	7.494	4.314
Total		2702845	34405	100.000	100.000

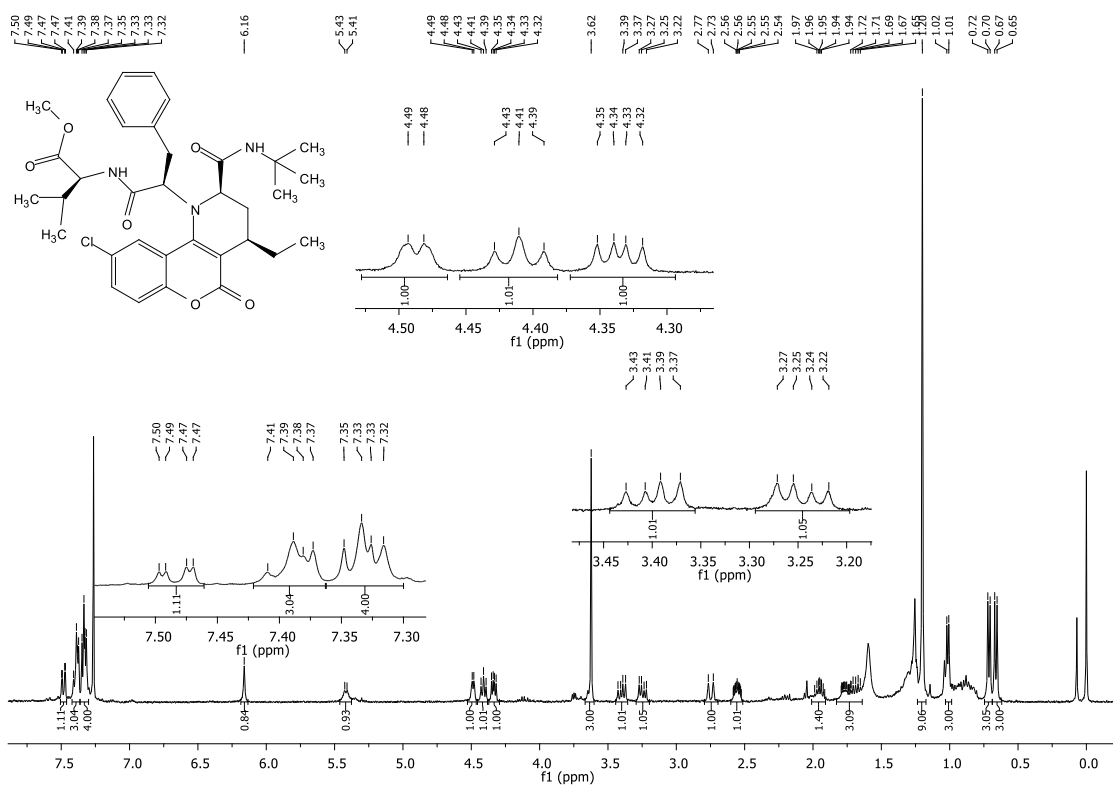
Cromatograma do composto **6b** racêmico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (95:5).



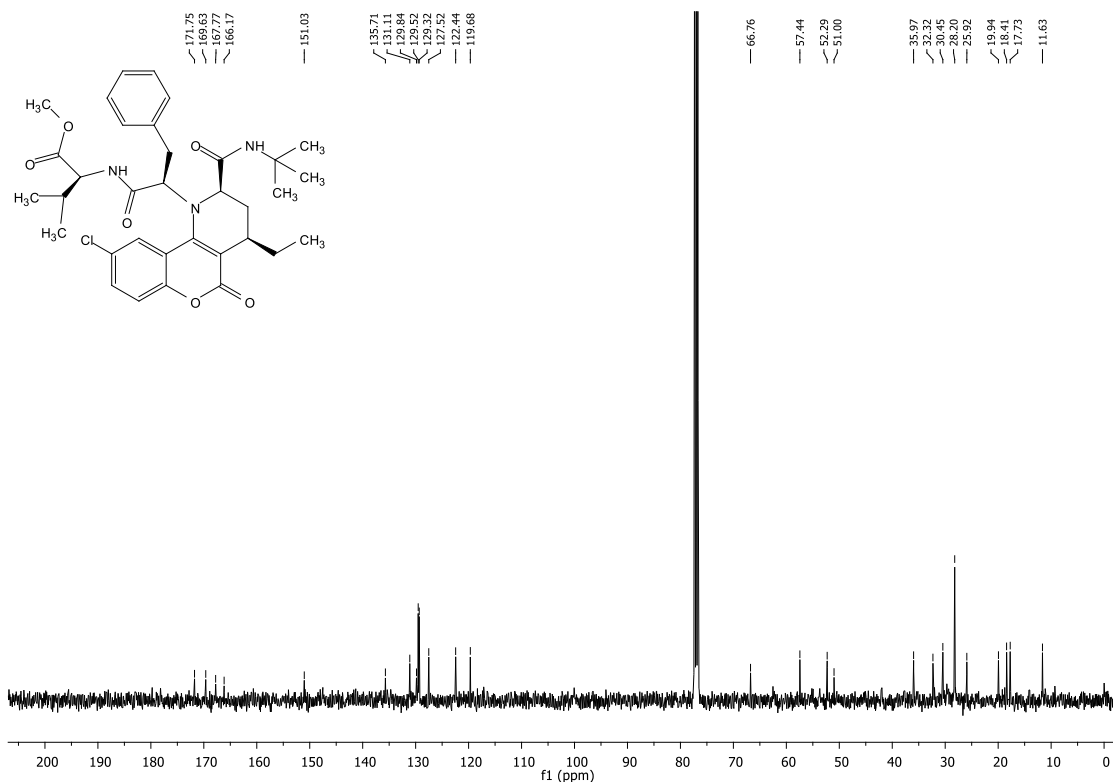
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	20.028	1973019	27729	71.265	81.757
2	24.036	110119	1192	3.977	3.514
3	29.072	33741	264	1.219	0.778
4	39.191	651696	4732	23.539	13.951
Total		2768575	33916	100.000	100.000

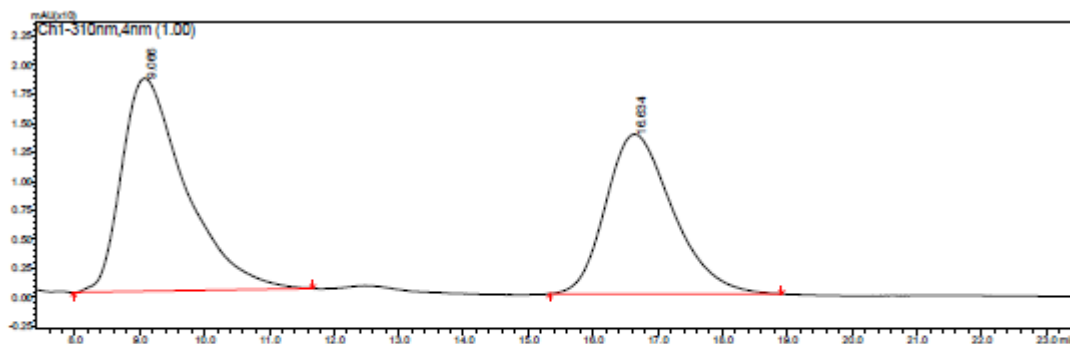
Cromatograma do composto **6b** assimétrico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (95:5). 75,242



Espectro de RMN ^1H do composto **6c** em CDCl_3 a 400 MHz.



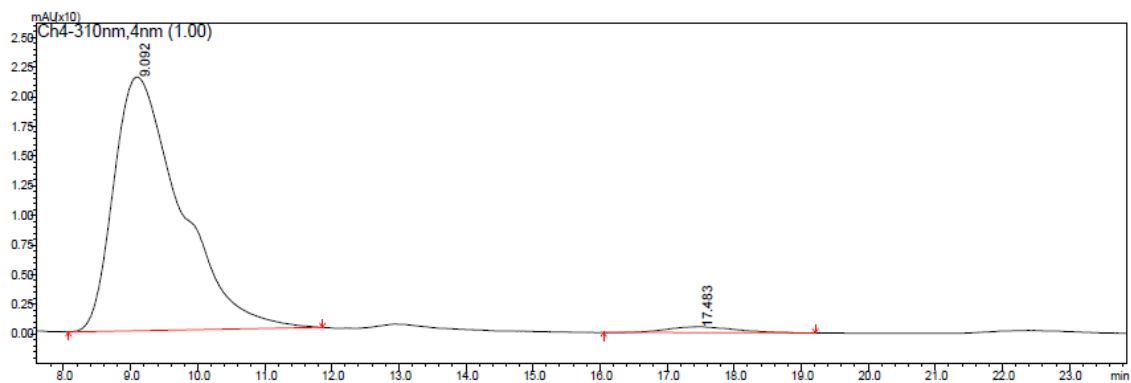
Espectro de RMN ^{13}C do composto **6c** em CDCl_3 a 100 MHz.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.066	1259557	18325	55.936	57.136
2	16.634	992218	13747	44.064	42.864
Total		2251775	32072	100.000	100.000

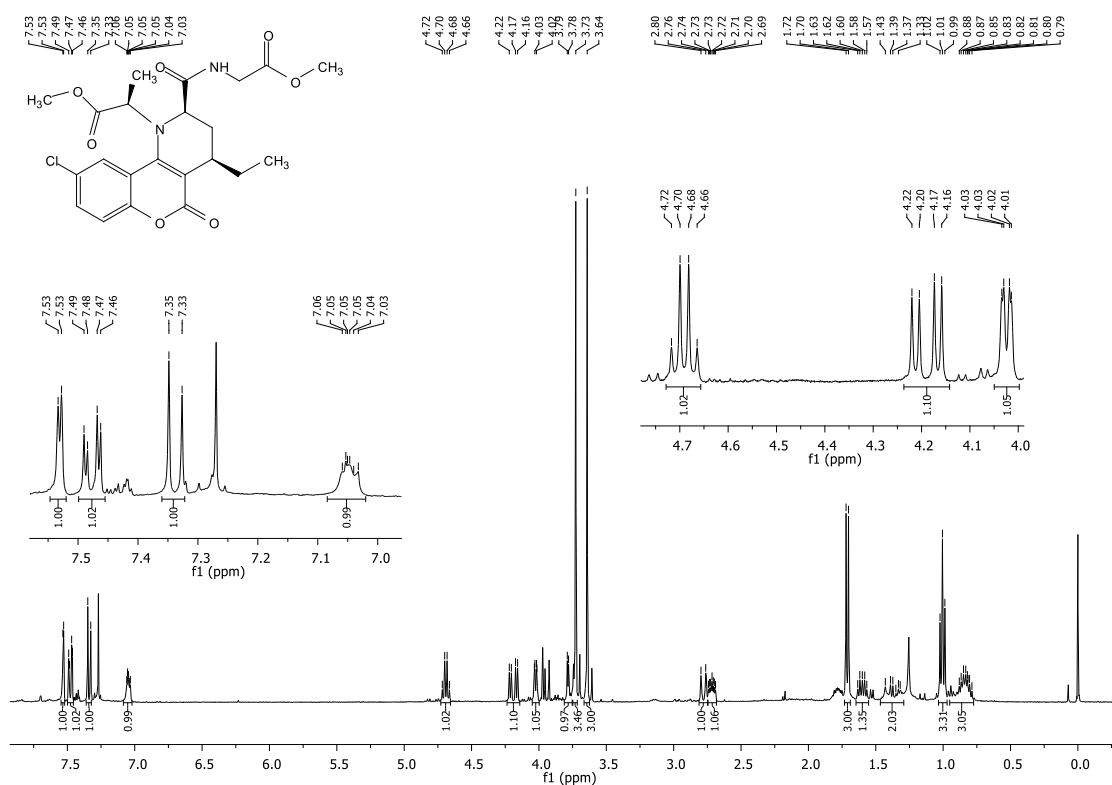
Cromatograma do composto **6c** racêmico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (90:10).



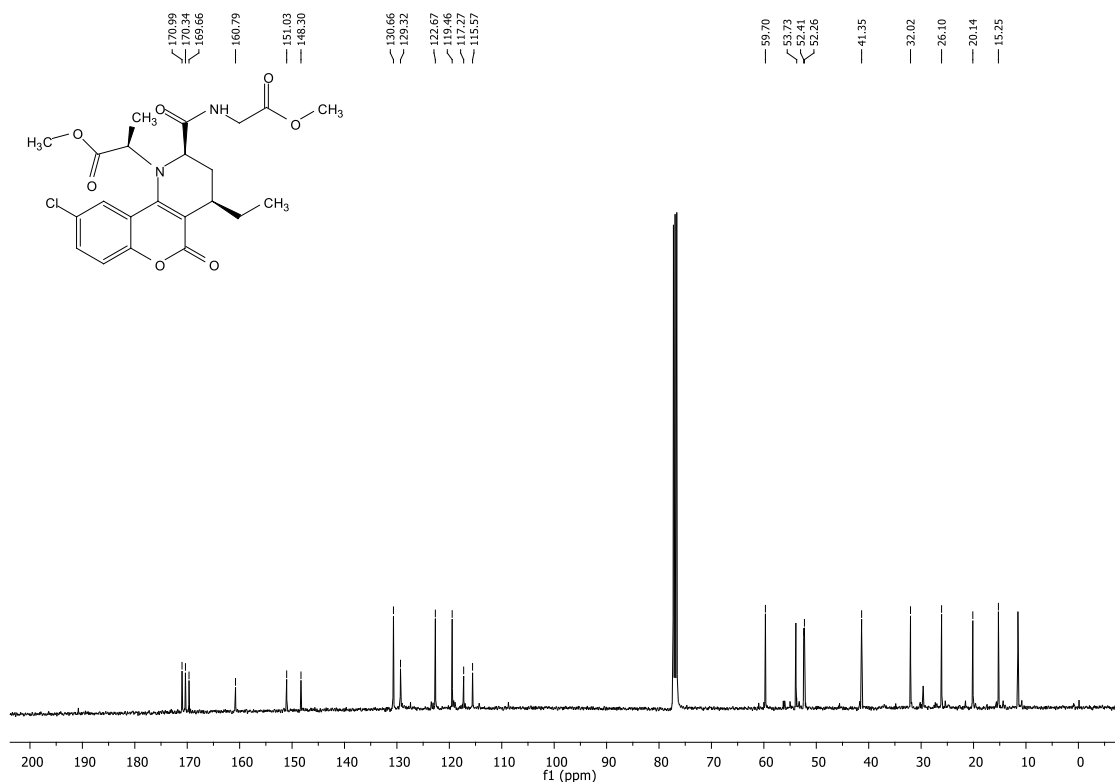
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.092	1488117	21389	97.809	97.791
2	17.483	33341	483	2.191	2.209
Total		1521458	21872	100.000	100.000

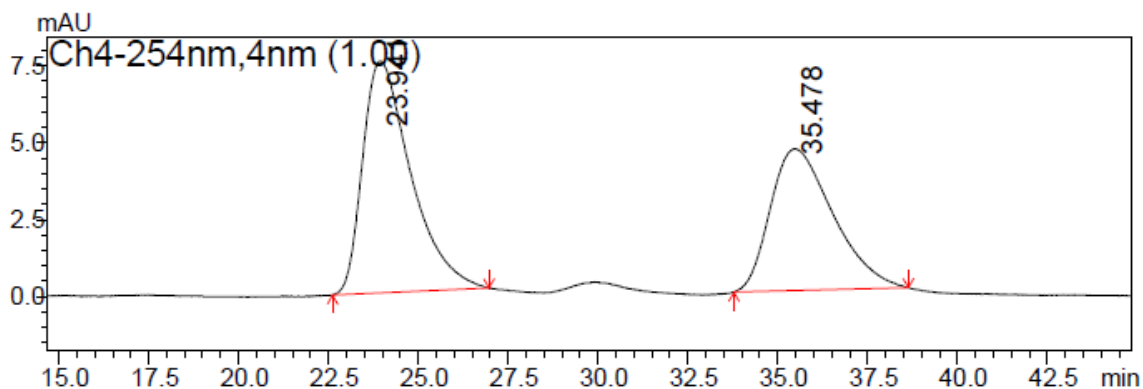
Cromatograma do composto **6c** assimétrico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (90:10).



Espectro de RMN ¹H do composto **6d** em CDCl₃ a 400 MHz.



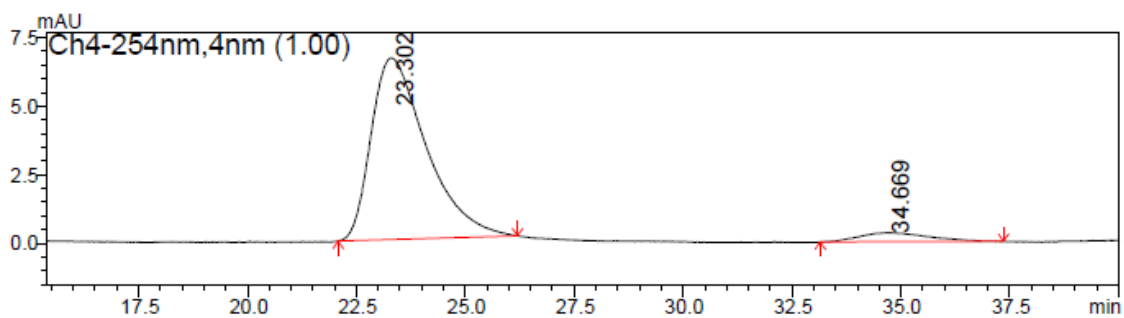
Espectro de RMN ^{13}C do composto **6d** em CDCl_3 a 100 MHz.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	23.941	704474	7533	55.772	62.059
2	35.478	558648	4606	44.228	37.941
Total		1263122	12139	100.000	100.000

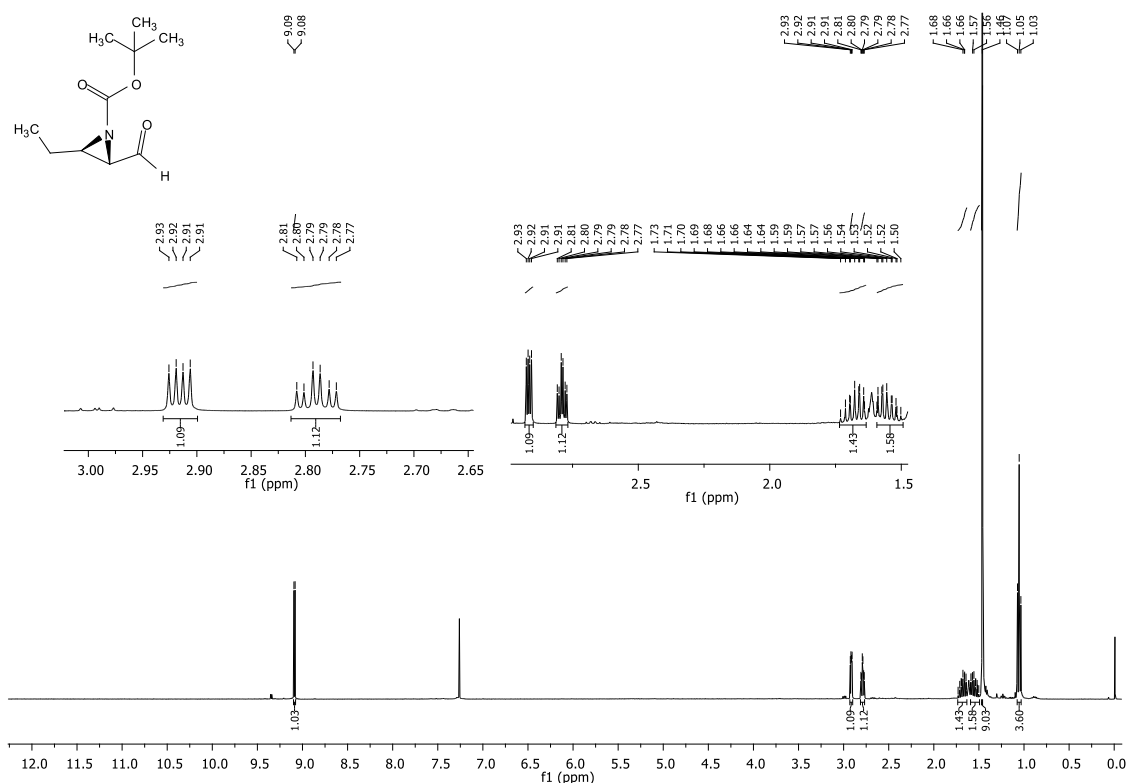
Cromatograma do composto **6d** racêmico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (90:10).



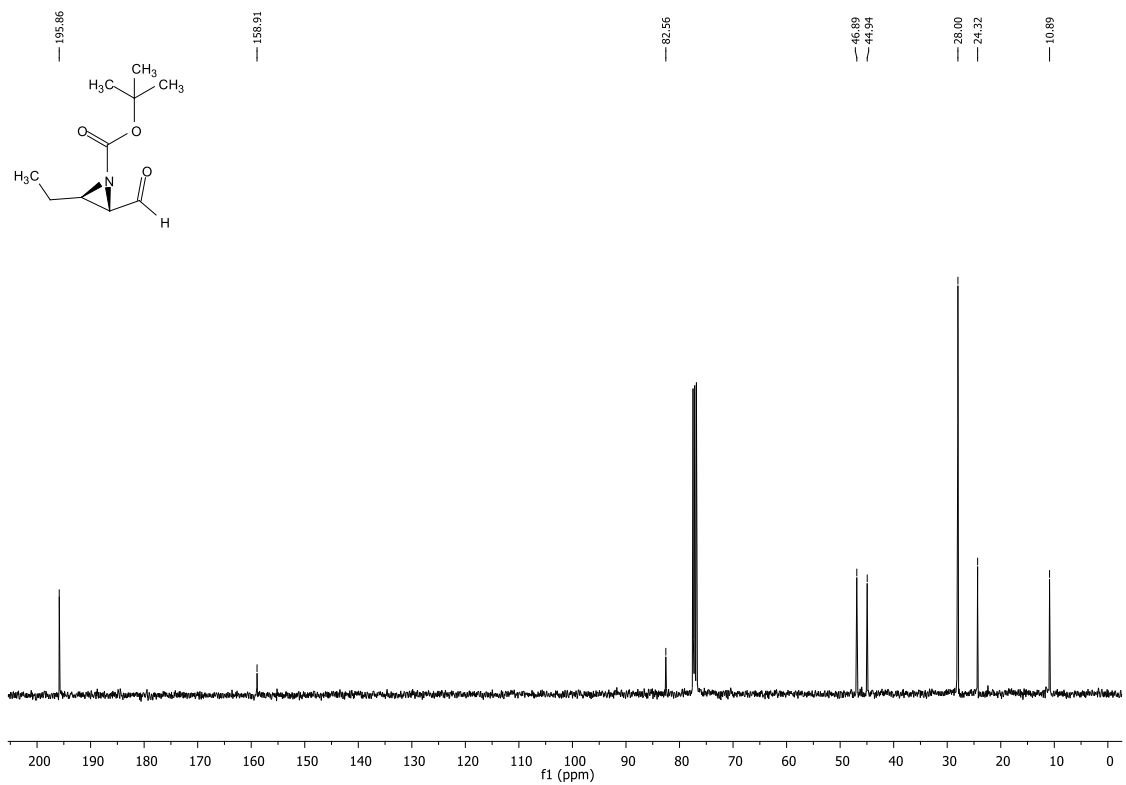
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	23.302	582388	6609	94.060	95.174
2	34.669	36782	335	5.940	4.826
Total		619170	6944	100.000	100.000

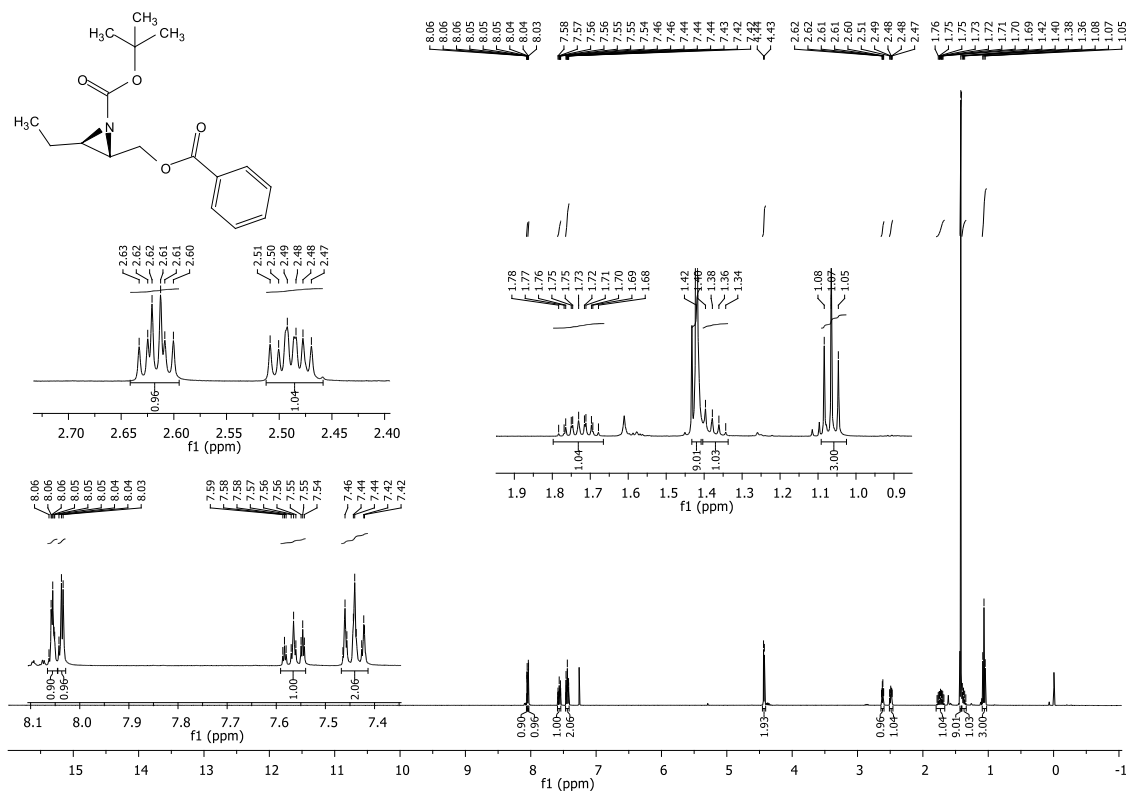
Cromatograma do composto **6d** assimétrico, coluna OD-H, hexano:isopropanol (90:10).

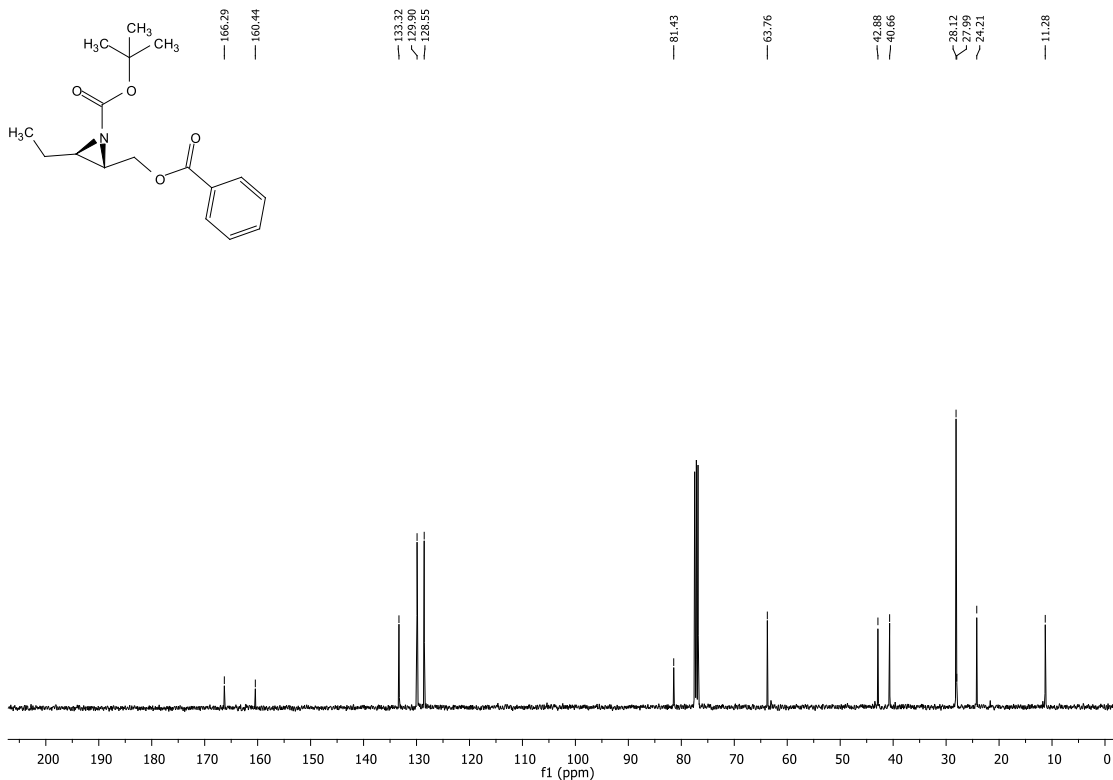


Espectro de RMN ¹H do composto **11a** em CDCl₃ a 400 MHz.

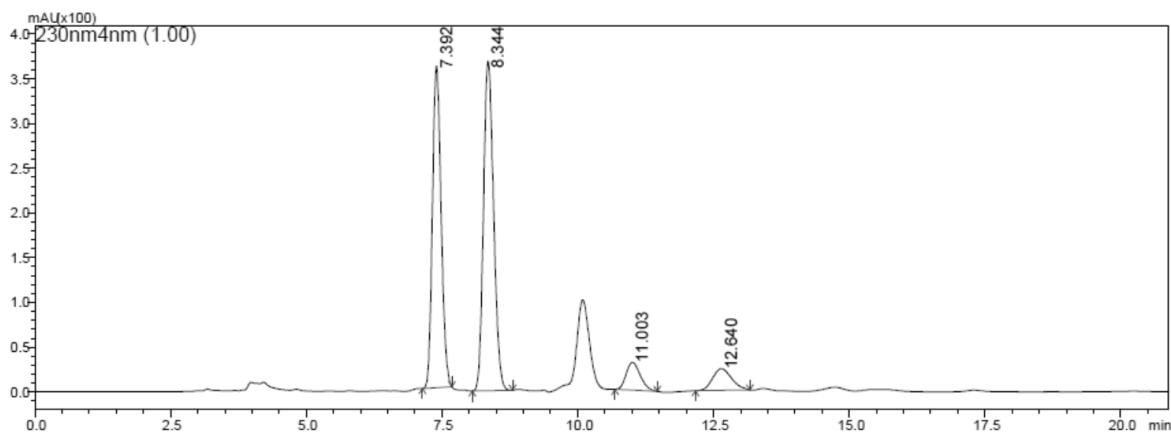


Espectro de RMN ^{13}C do composto **11a** em CDCl_3 a 100 MHz.





Espectro de RMN ^{13}C do composto **11ab** em CDCl_3 a 100 MHz.

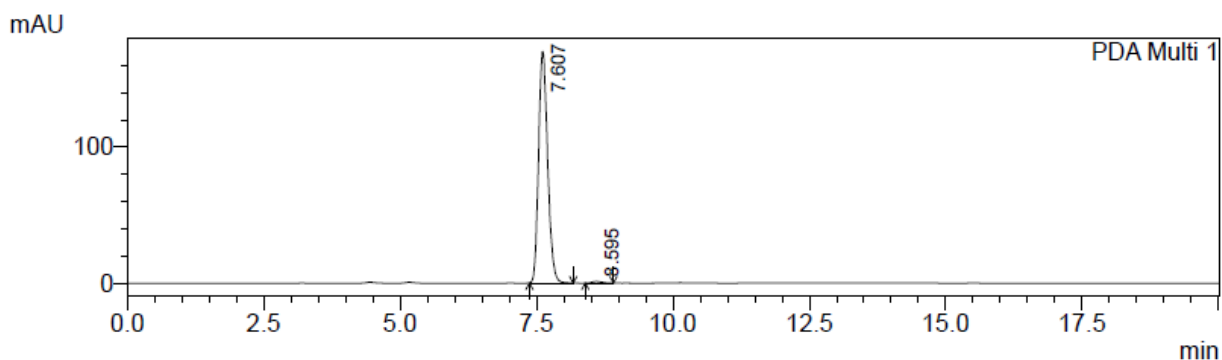


PeakTable

PDA Ch1 230nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	7.392	3991801	359512	40.204	45.903
2	8.344	4784305	368341	48.186	47.031
3	11.003	564681	31216	5.687	3.986
4	12.640	587956	24122	5.922	3.080
Total		9928743	783192	100.000	100.000

Cromatograma do composto **11ab** racêmico, coluna OD-H, *n*-hexano:*i*PrOH 99:1.

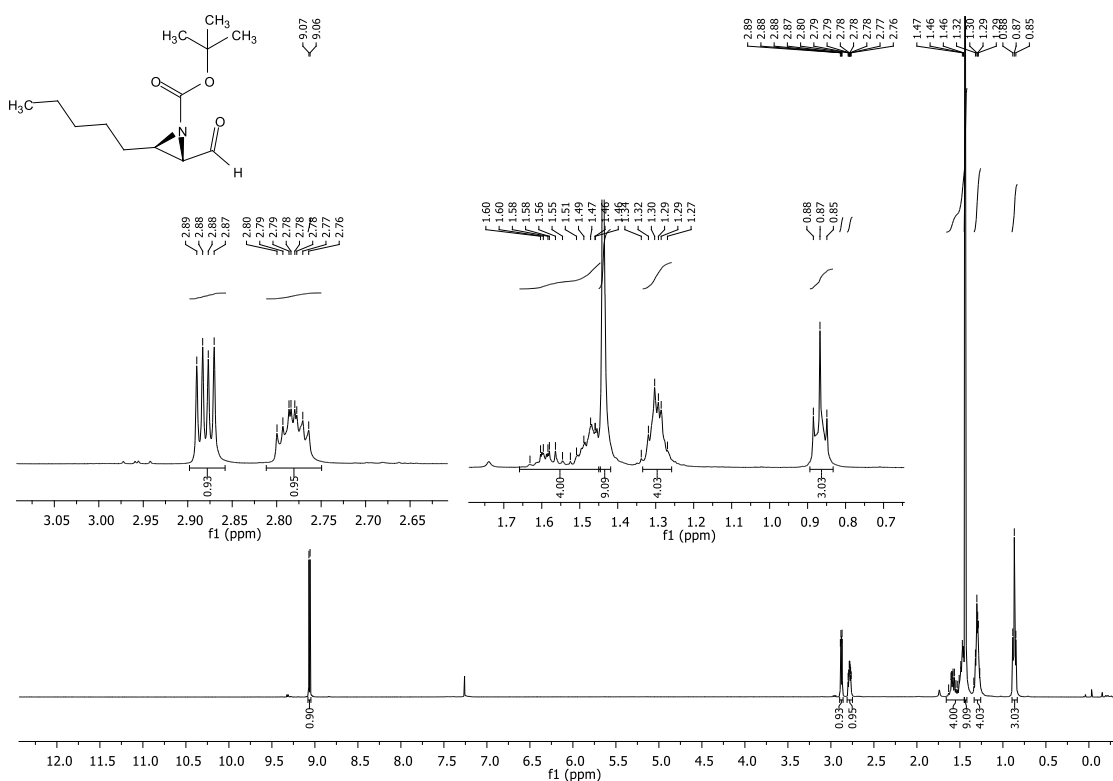


1 PDA Multi 1/230nm 4nm

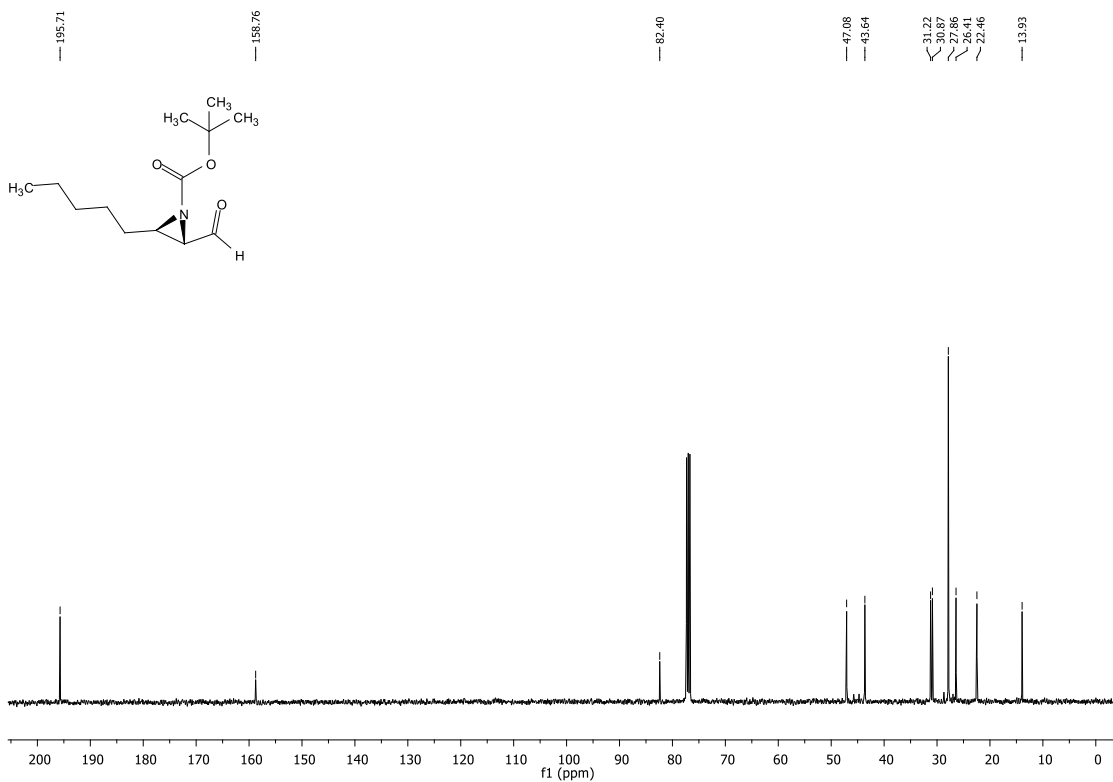
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	7.607	1965966	170255	99.229	99.286
2	8.595	15284	1225	0.771	0.714
Total		1981250	171480	100.000	100.000

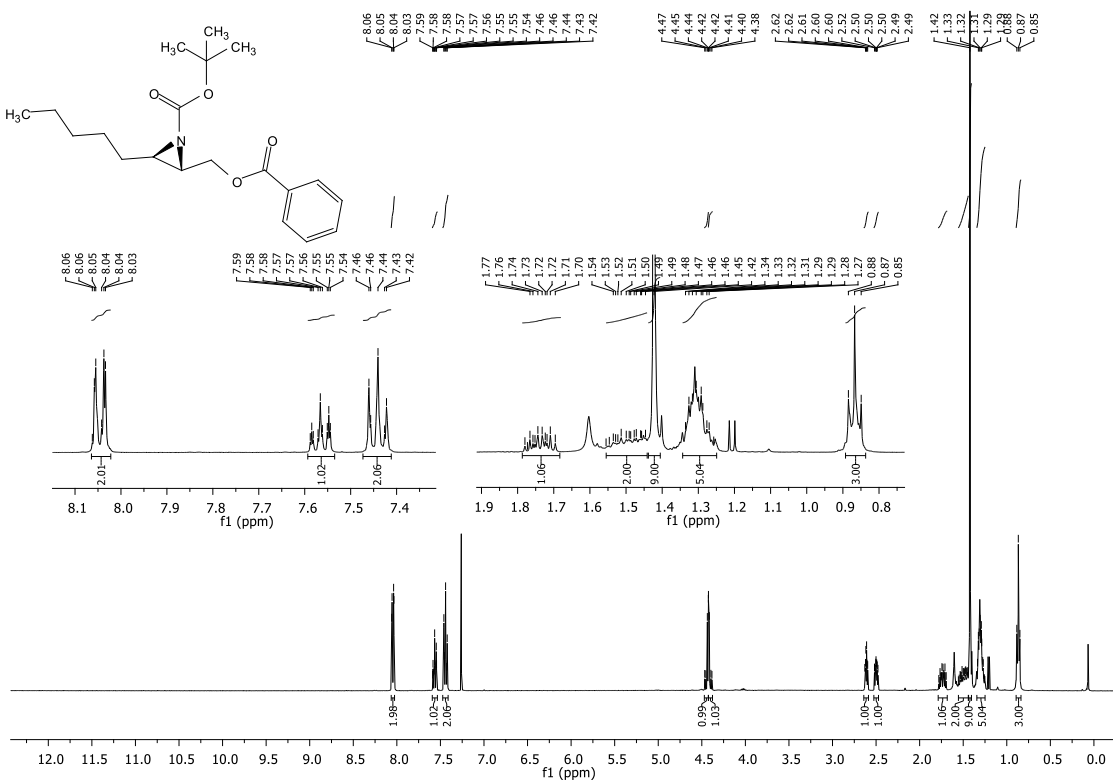
Cromatograma do composto **11ab** assimétrico, coluna OD-H, *n*-hexano:*i*PrOH 99:1, 1ml/min.



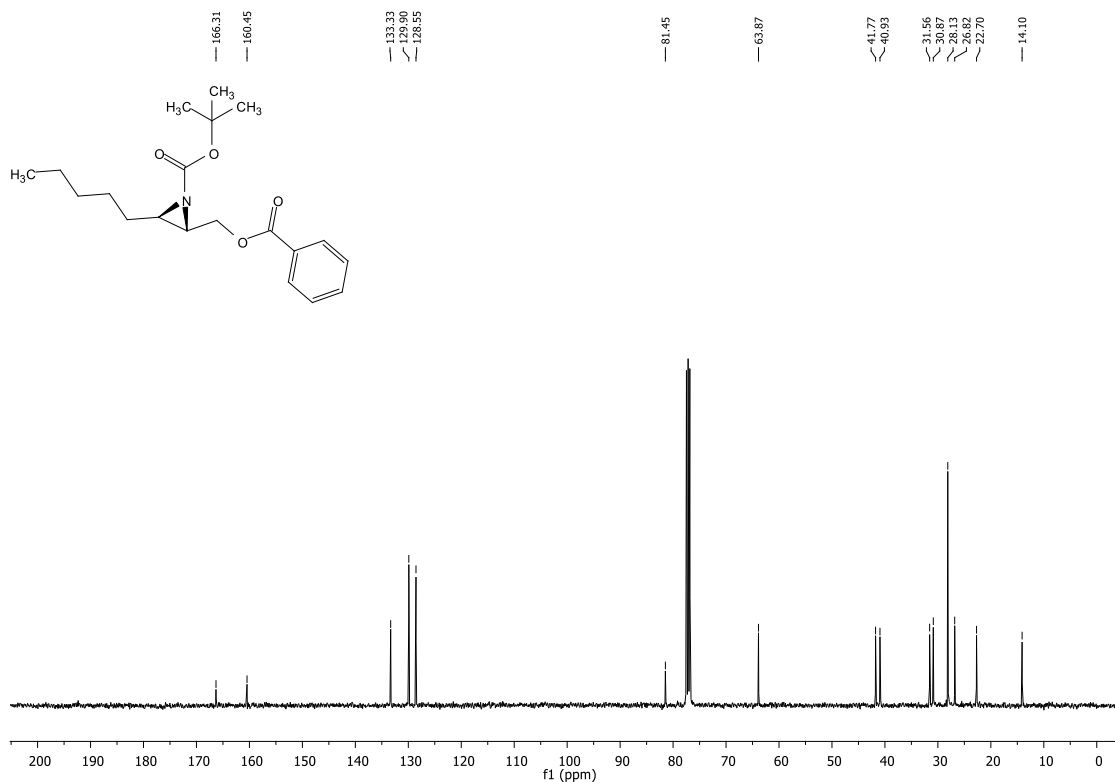
Espectro de RMN ^1H do composto **11b** em CDCl_3 a 400 MHz.



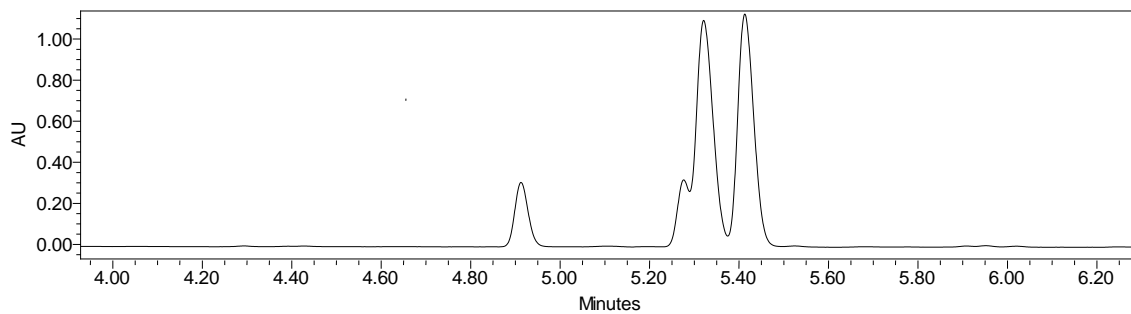
Espectro de RMN ^{13}C do composto **11b** em CDCl_3 a 100 MHz.



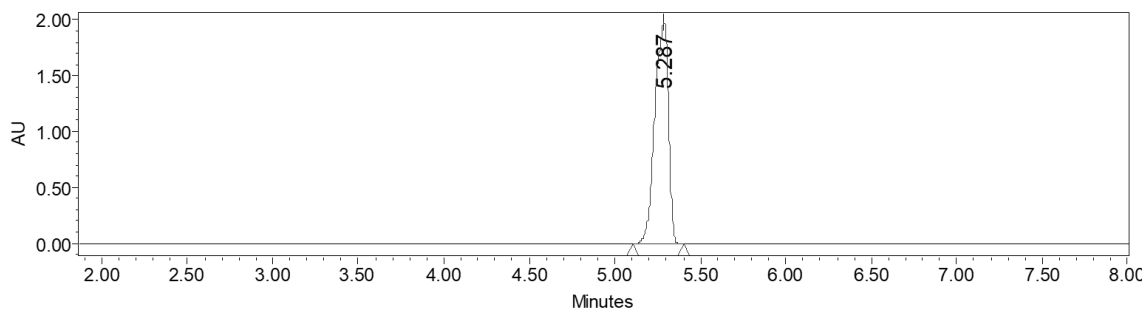
Espectro de RMN ^1H do composto **11bc** em CDCl_3 a 400 MHz.



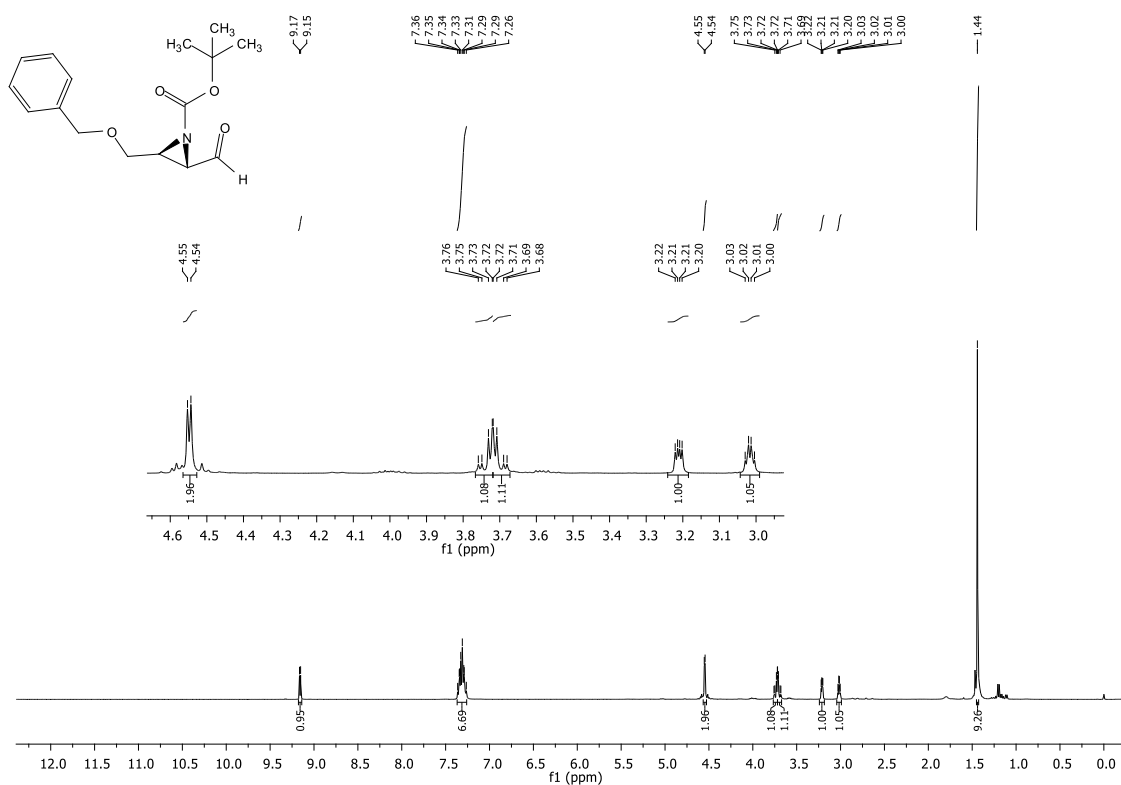
Espectro de RMN ^{13}C do composto **11bc** em CDCl_3 a 100 MHz.



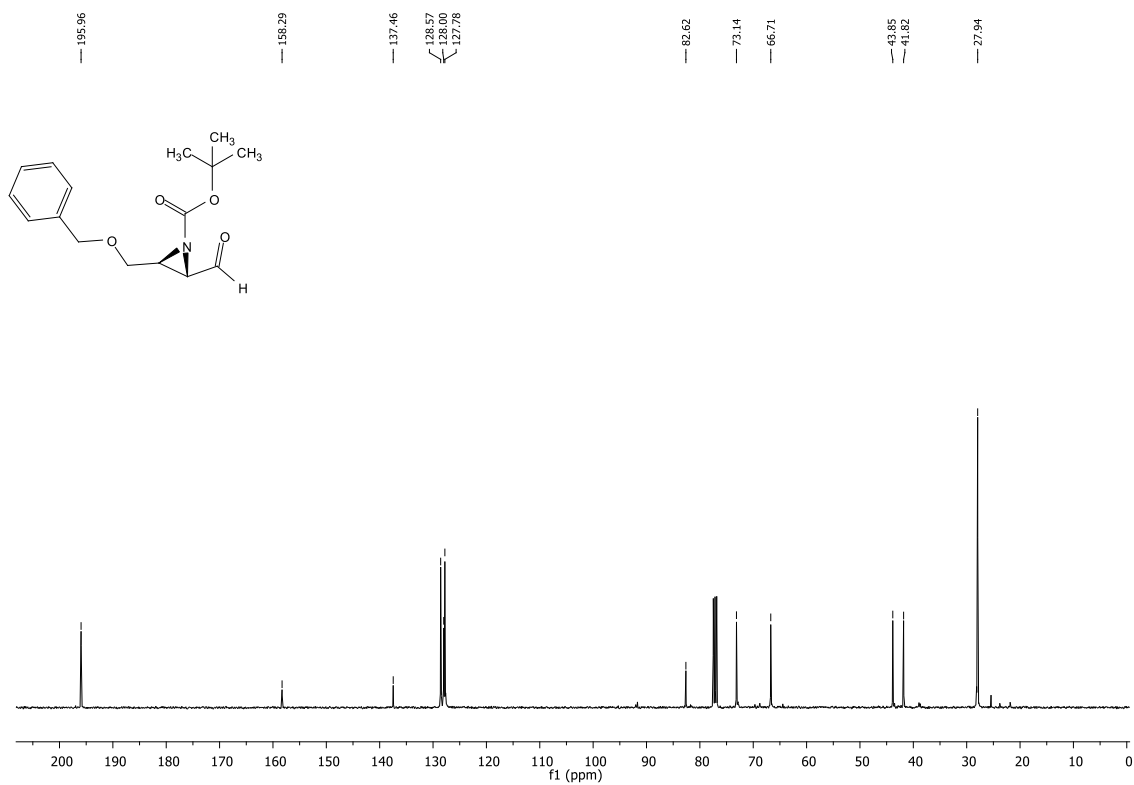
Cromatograma do composto **11bc** racêmico, coluna Trefoil, CEL2 (90% MeOH, gradiente, 1,2 ml/min, 2000 psi, 35 °C)



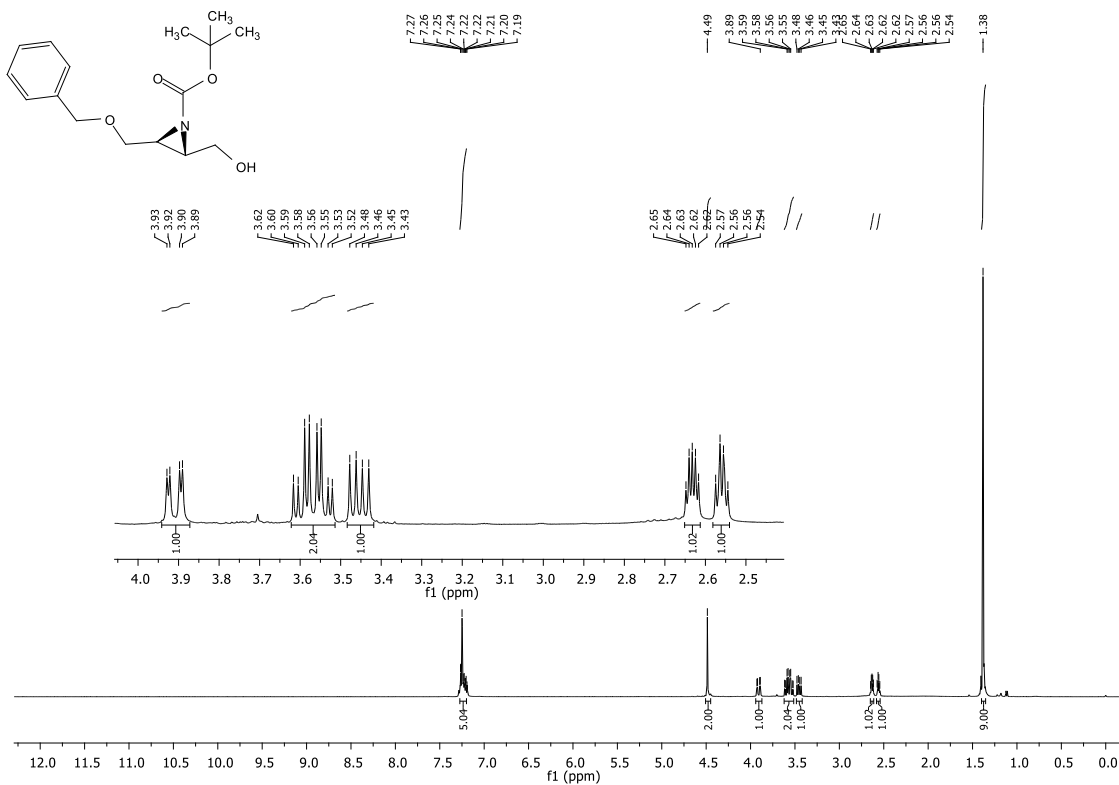
Cromatograma do composto **11bc** assimétrico, coluna Trefoil, CEL2 (90% MeOH, gradiente, 1,2 ml/min, 2000 psi, 35 °C)



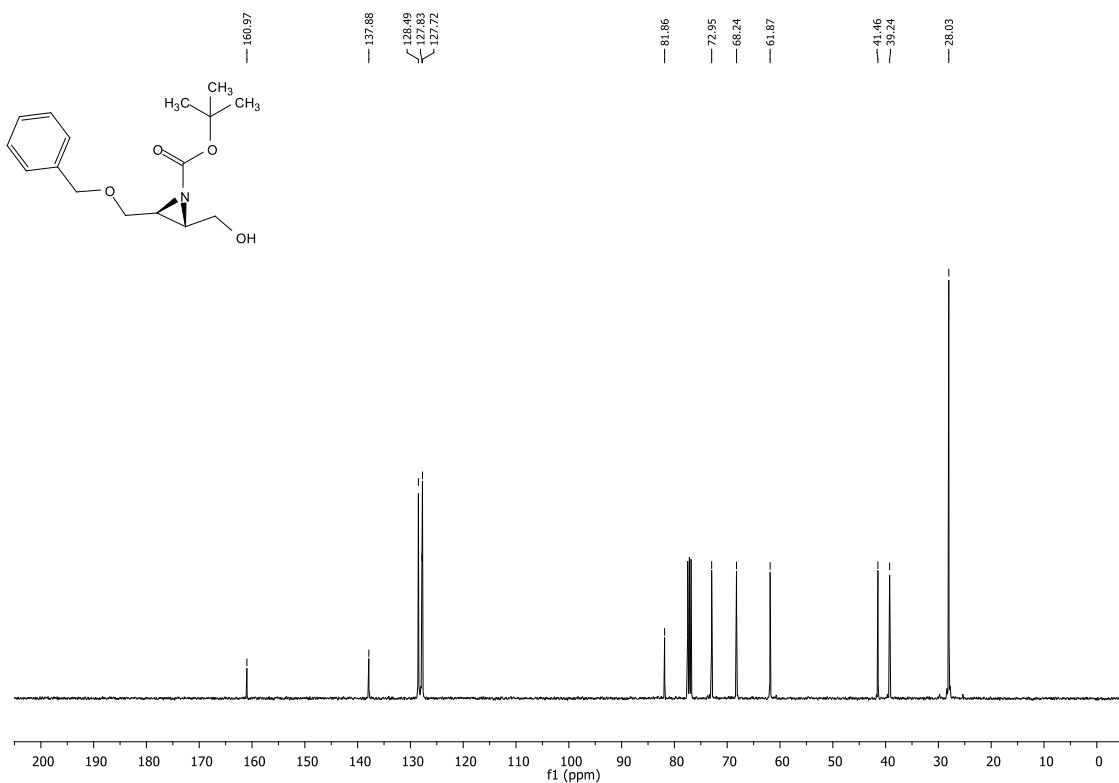
Espectro de RMN ¹H do composto **11c** em CDCl₃ a 400 MHz.



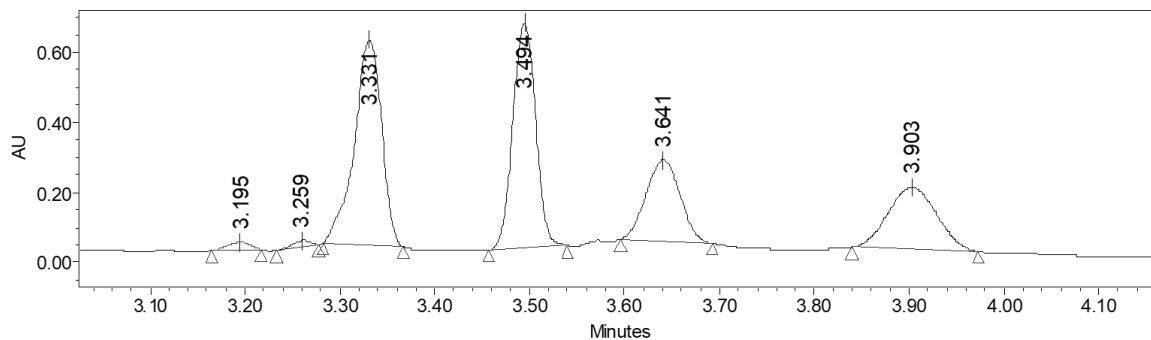
Espectro de RMN ¹³C do composto **11c** em CDCl₃ a 100 MHz.



Espectro de RMN ^1H do composto **11cc** em CDCl_3 a 400 MHz.

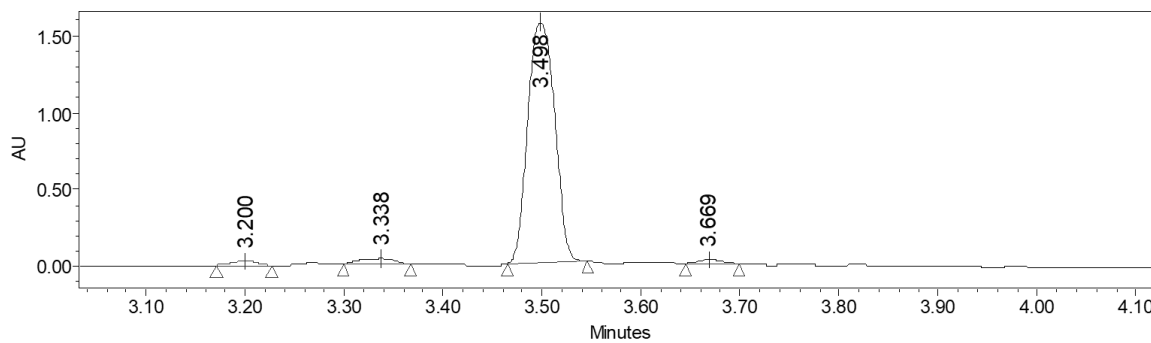


Espectro de RMN ^{13}C do composto **11cc** em CDCl_3 a 100 MHz.



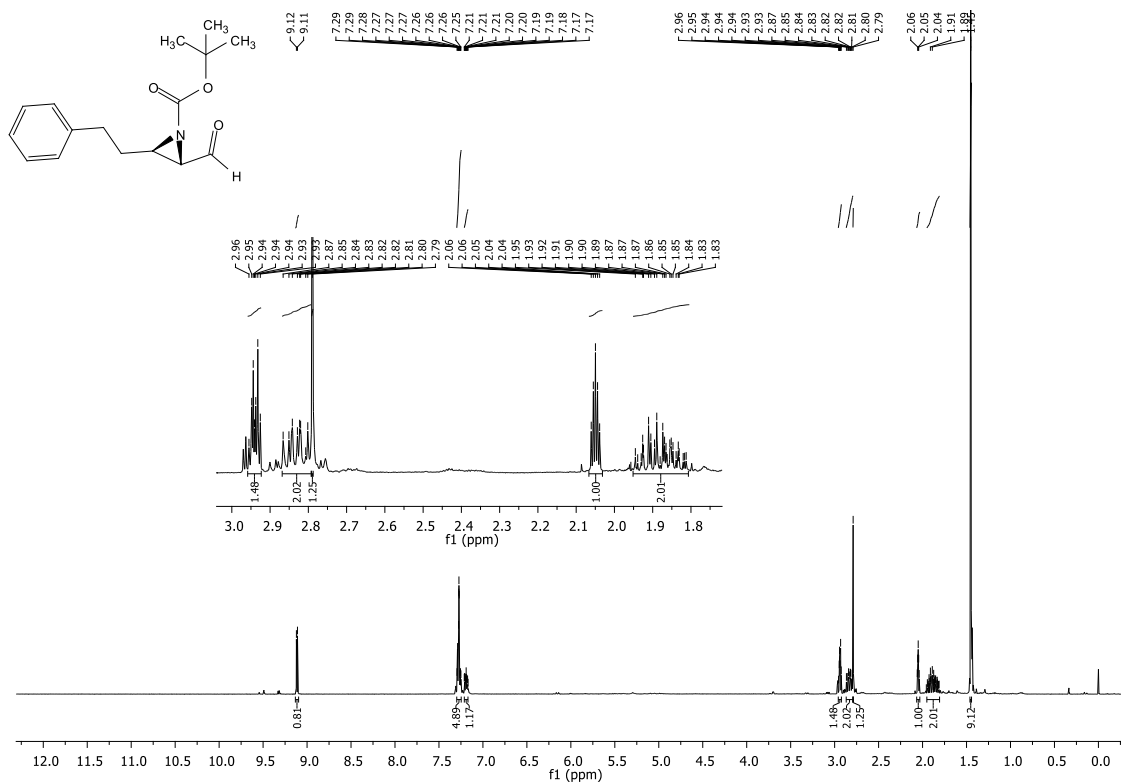
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	3.195	37606	1.06	22787
2	3.259	24194	0.68	18887
3	3.331	1180760	33.40	586497
4	3.494	1078383	30.51	641582
5	3.641	580771	16.43	232561
6	3.903	633299	17.92	177200

Cromatograma do composto **11cc** racêmico, coluna Trefoil, AMY1 (40% MeCN, gradiente, 2,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C).

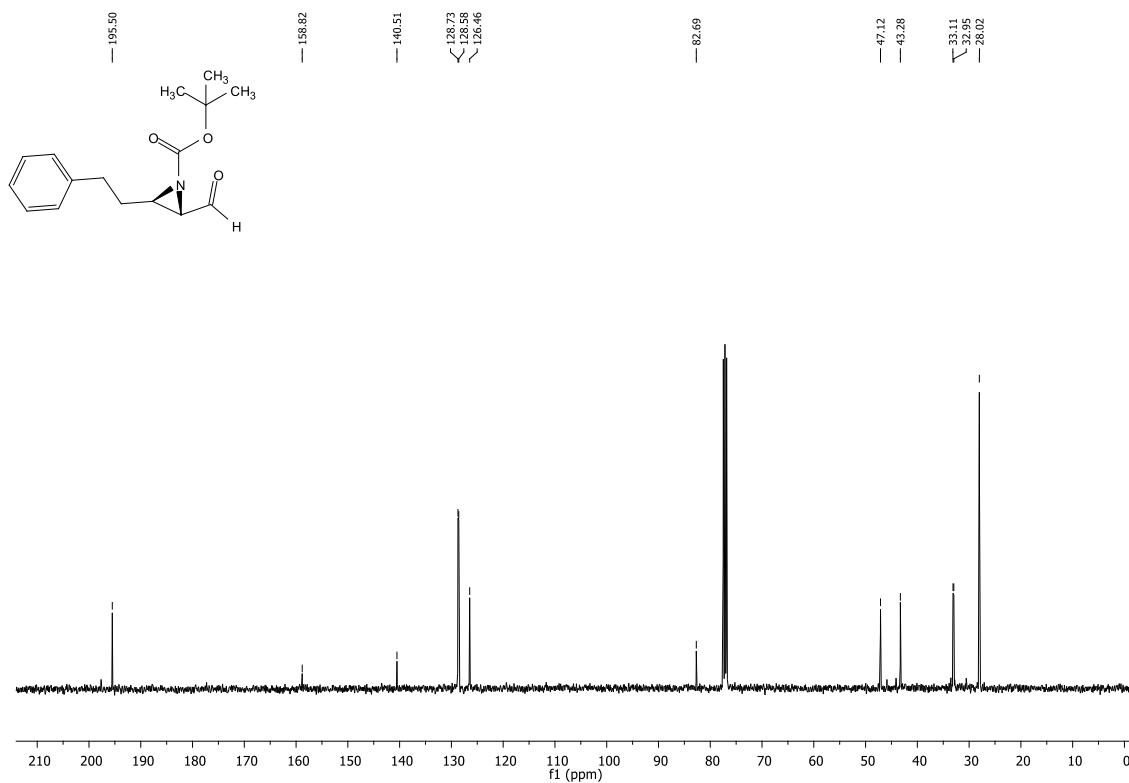


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	3.200	46864	1.51	28085
2	3.338	99524	3.20	40111
3	3.498	2922617	93.89	1564002
4	3.669	43839	1.41	28023

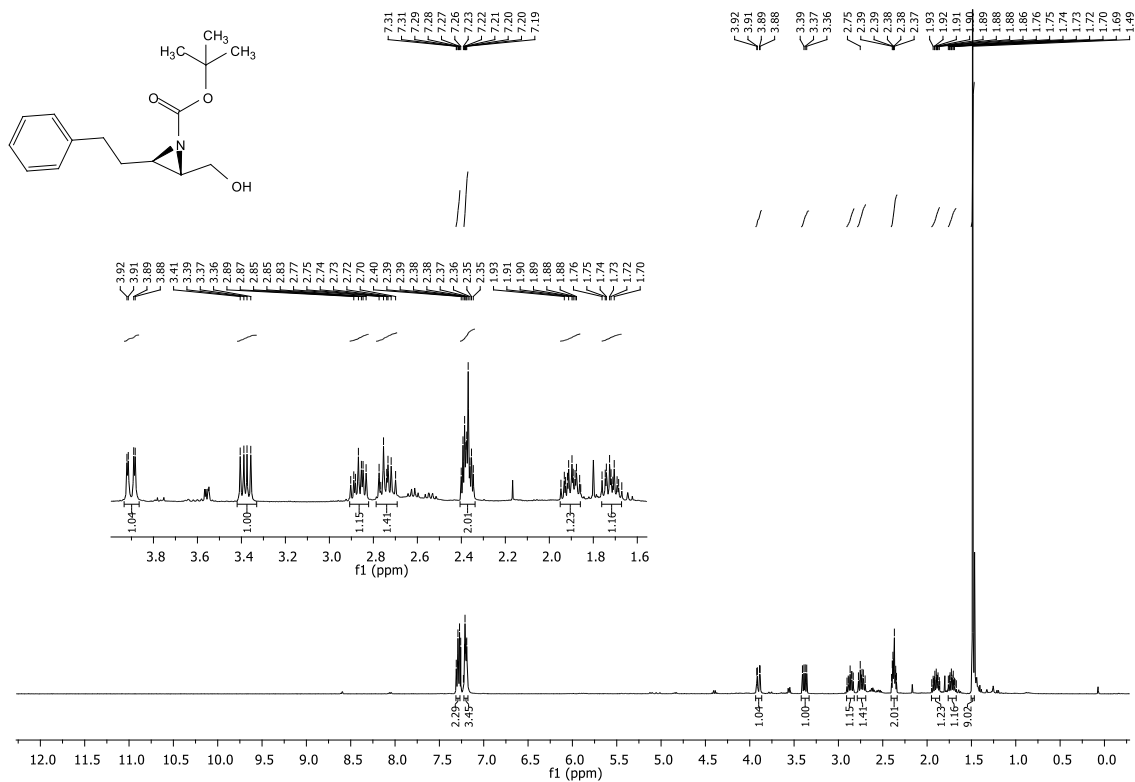
Cromatograma do composto **11cc** assimétrico, coluna Trefoil, AMY1 (40% MeCN, gradiente, 2,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C).



Espectro de RMN ^1H do composto **11d** em CDCl_3 a 400 MHz.



Espectro de RMN ^{13}C do composto **11d** em CDCl_3 a 100 MHz.



Espectro de RMN ¹H do composto 11dd em CDCl₃ a 400 MHz.

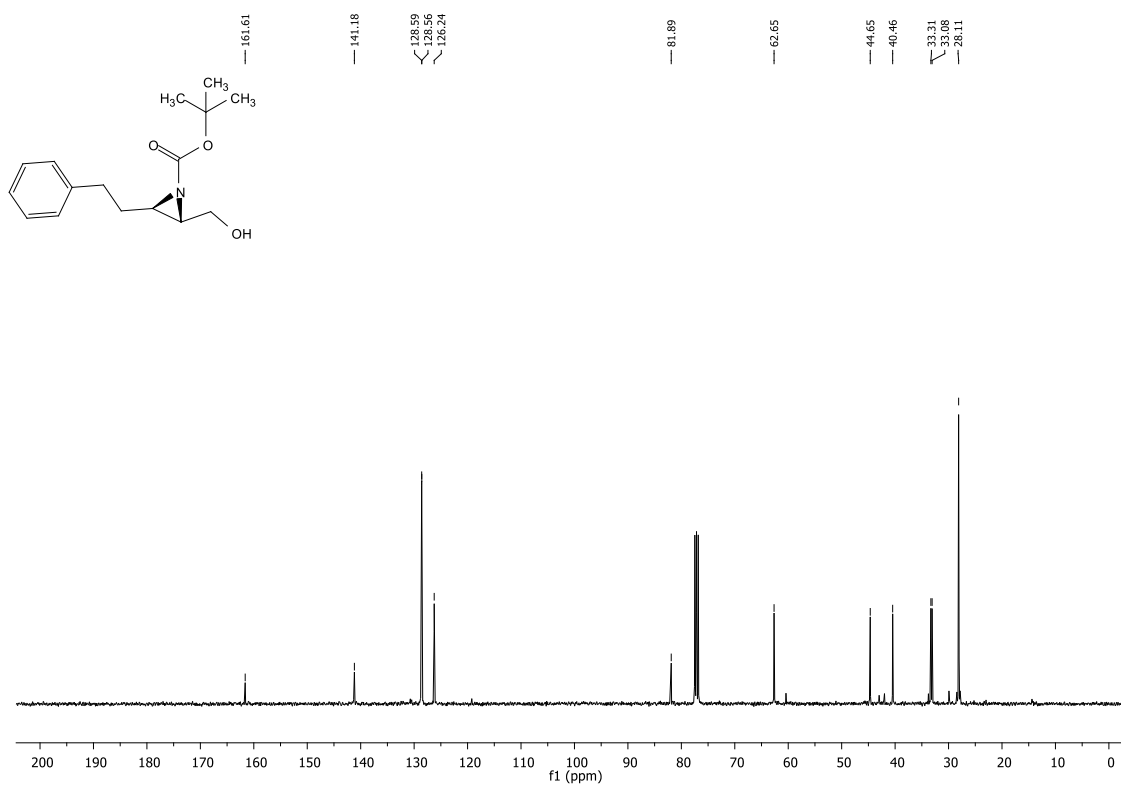
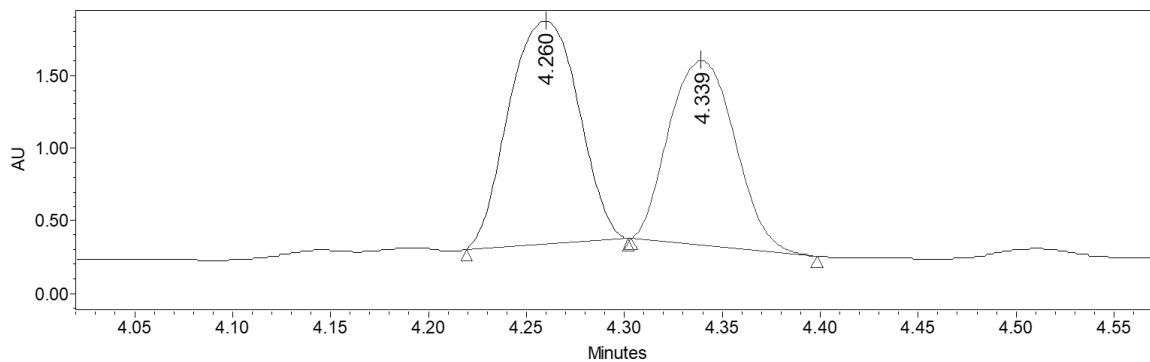
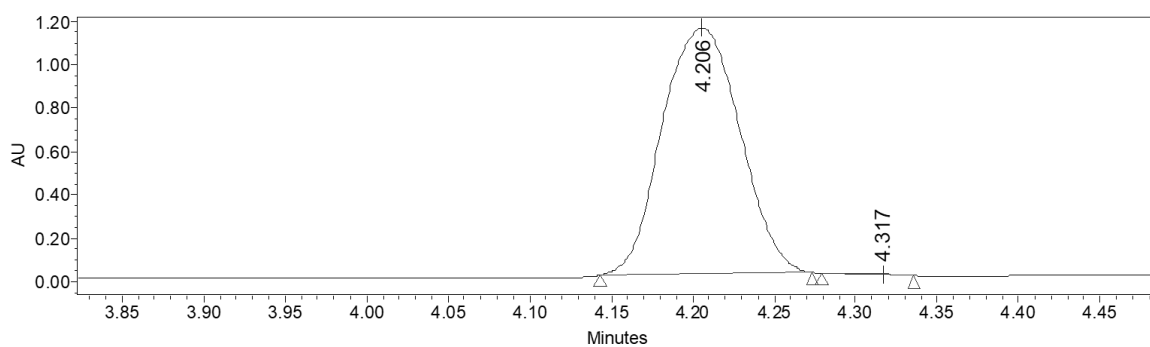


Figura 1: Espectro de RMN ¹³C do composto 11dd em CDCl₃ a 100 MHz.



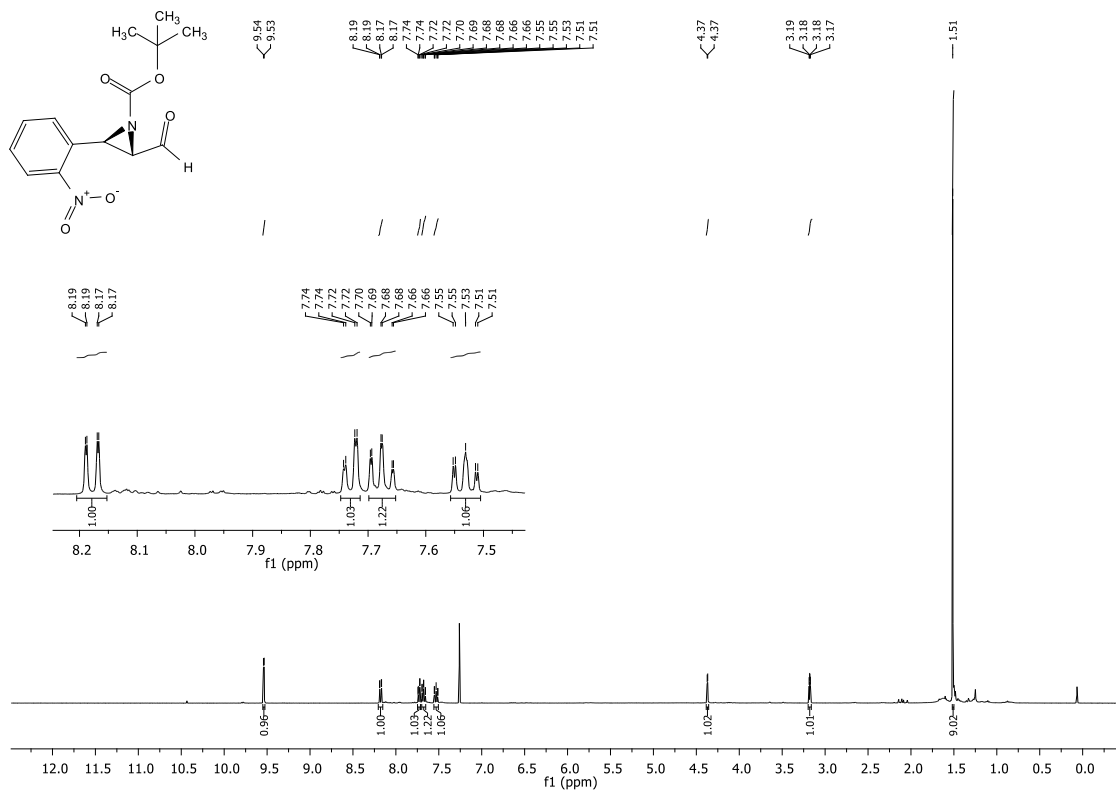
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	4.260	3799497	56.01	1535019
2	4.339	2983834	43.99	1269044

Cromatograma do diastereoisômero do composto **11dd** racêmico, coluna Trefoil, CEL1(40% MeCN, gradiente, 1,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C).

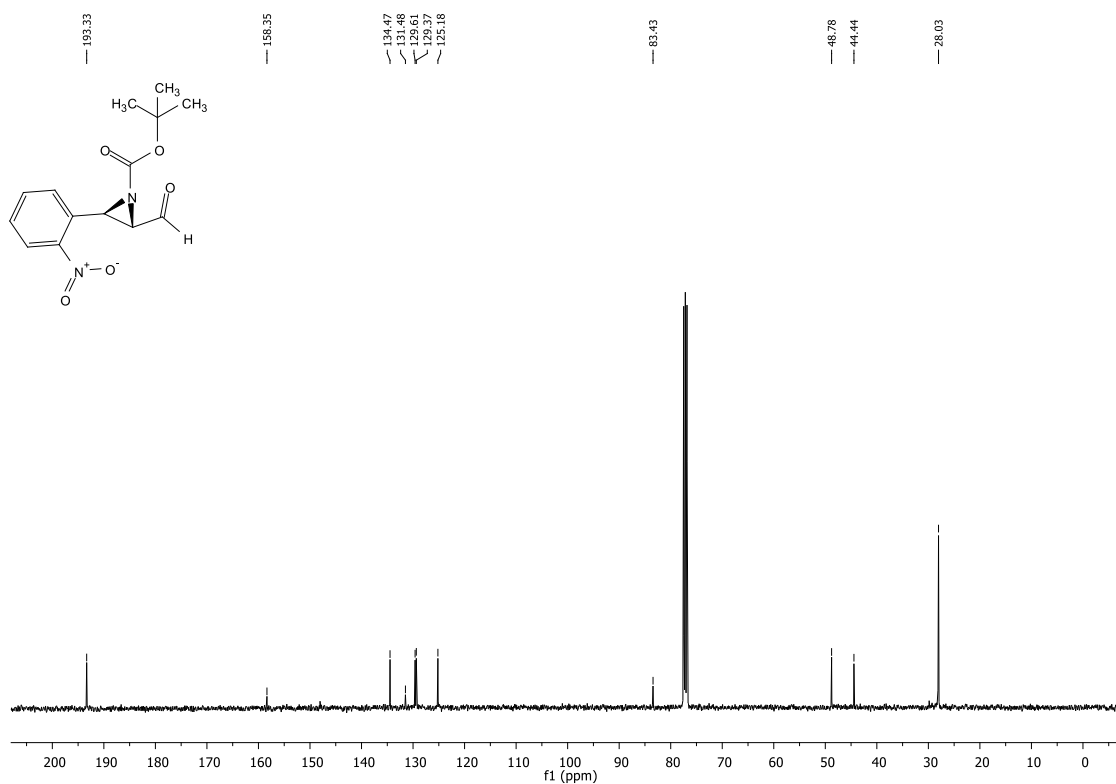


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	4.206	3754411	99.79	1133479
2	4.317	8043	0.21	4905

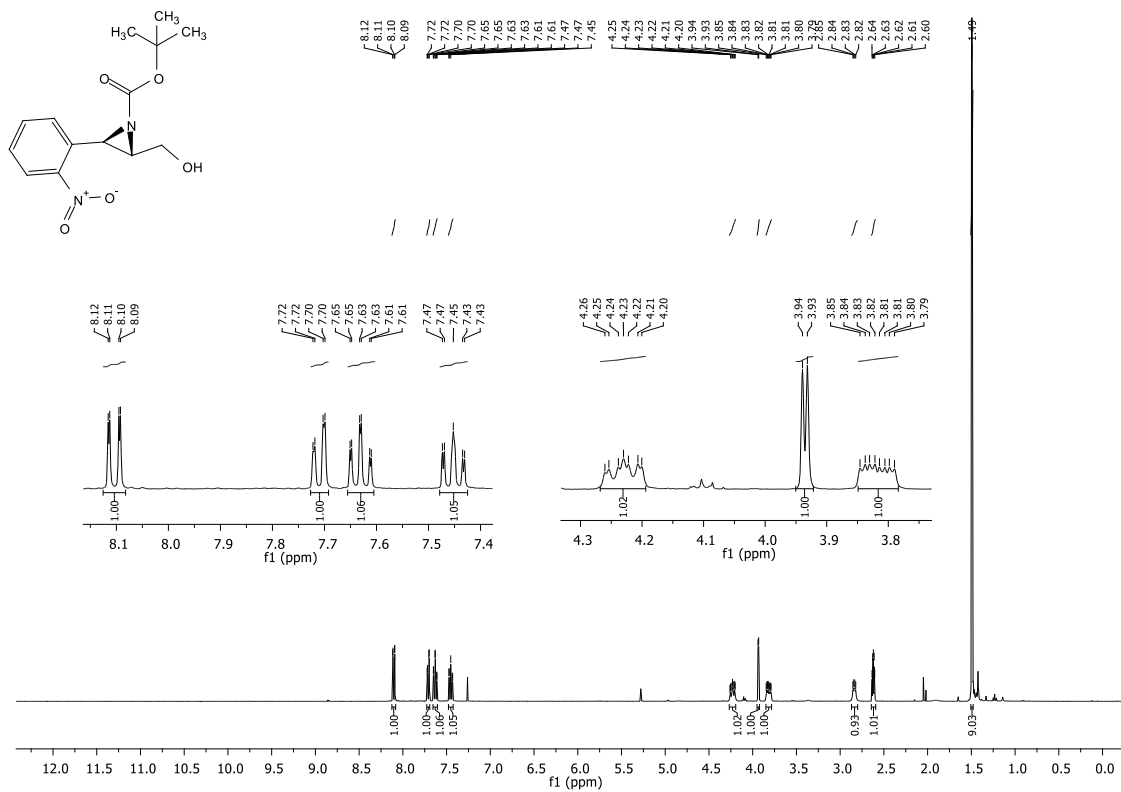
Cromatograma do composto **11dd** assimétrico, coluna Trefoil, CEL1 (40% MeCN, gradiente, 1,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C).



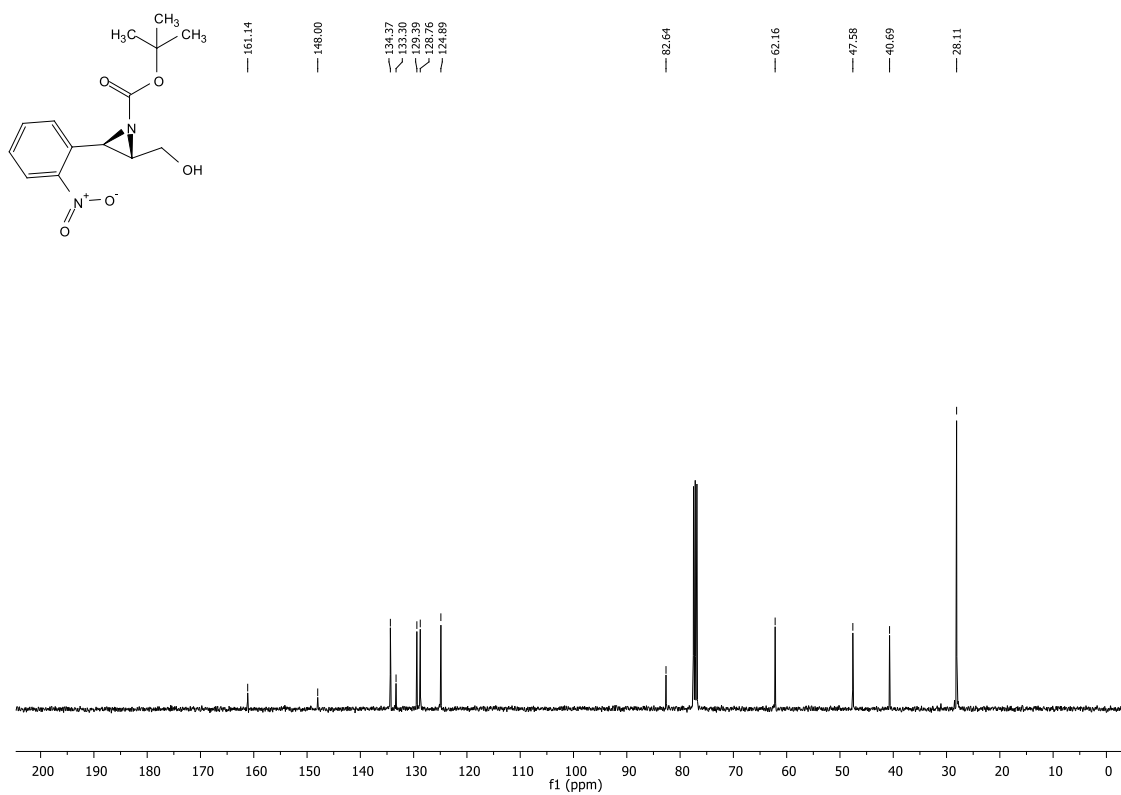
Espectro de RMN ^1H do composto **11e** em CDCl_3 a 400 MHz.



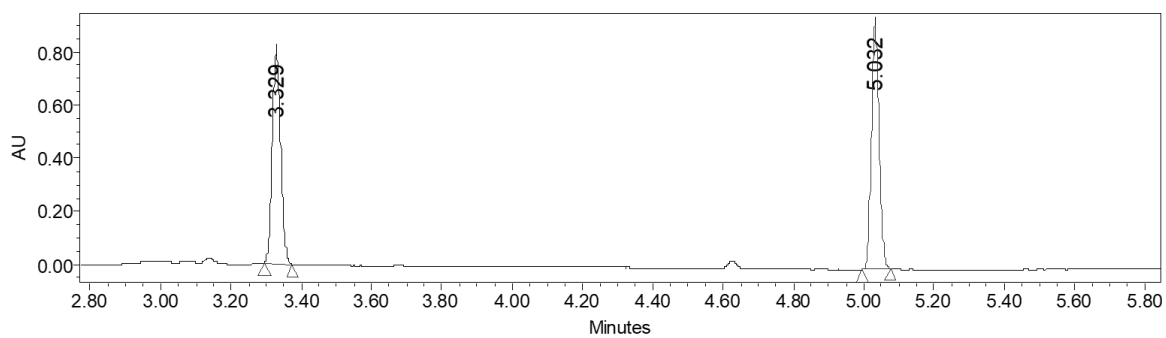
Espectro de RMN ^{13}C do composto **11e** em CDCl_3 a 100 MHz.



Espectro de RMN ¹H do composto **11ee** em CDCl₃ a 400 MHz.

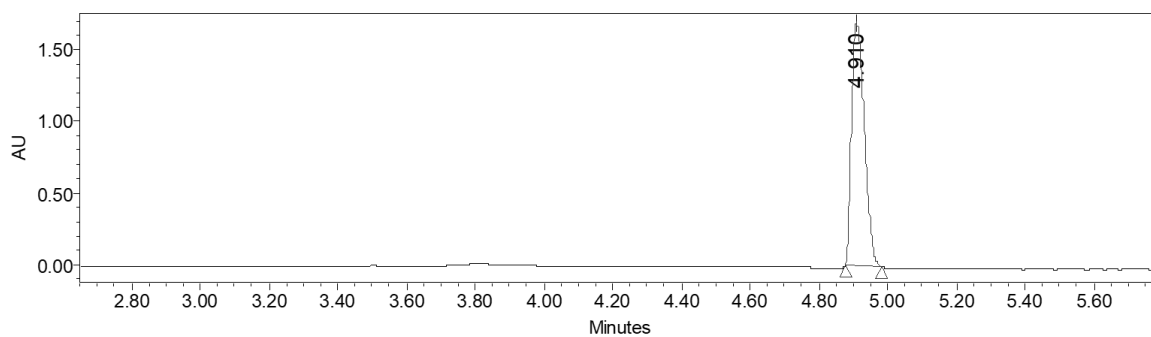


Espectro de RMN ¹³C do composto **11ee** em CDCl₃ a 100 MHz.



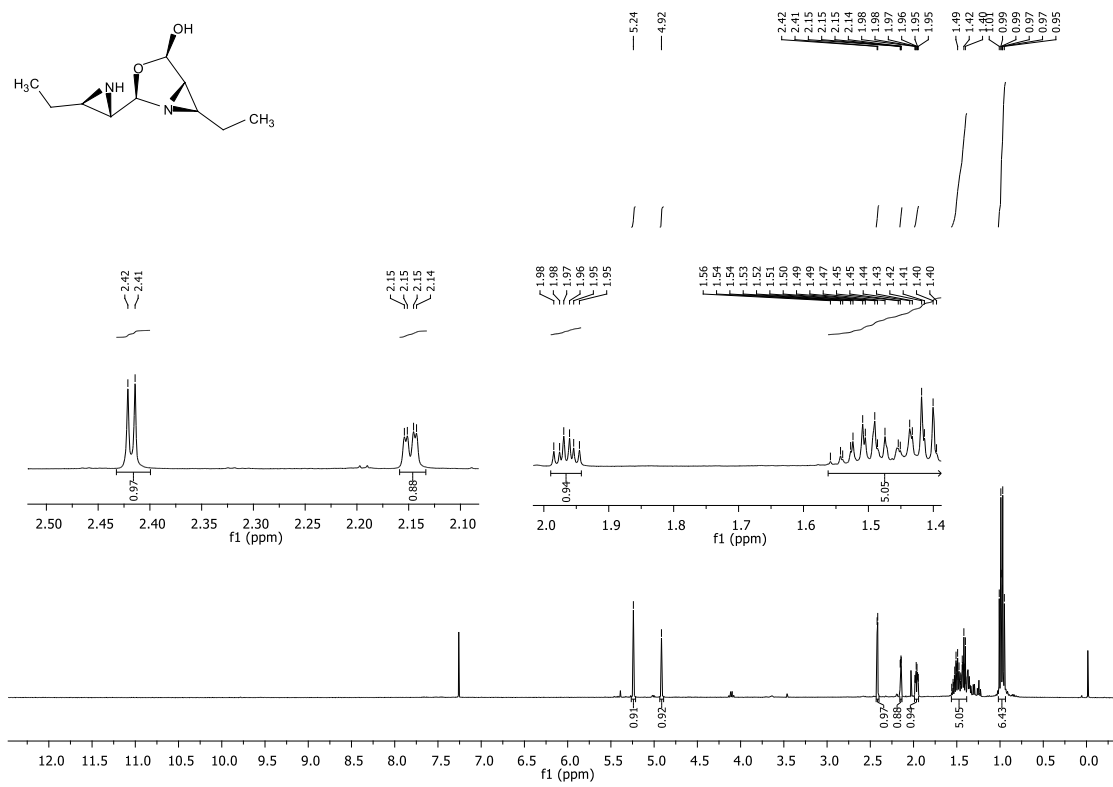
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	3.329	1628747	48.66	964389
2	5.032	1718336	51.34	1095615

Cromatograma do diastereoisômero majoritário do composto **11ee** racêmico, coluna Trefoil, AMY1 (40% *i*PrOH, gradiente, 2,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C).

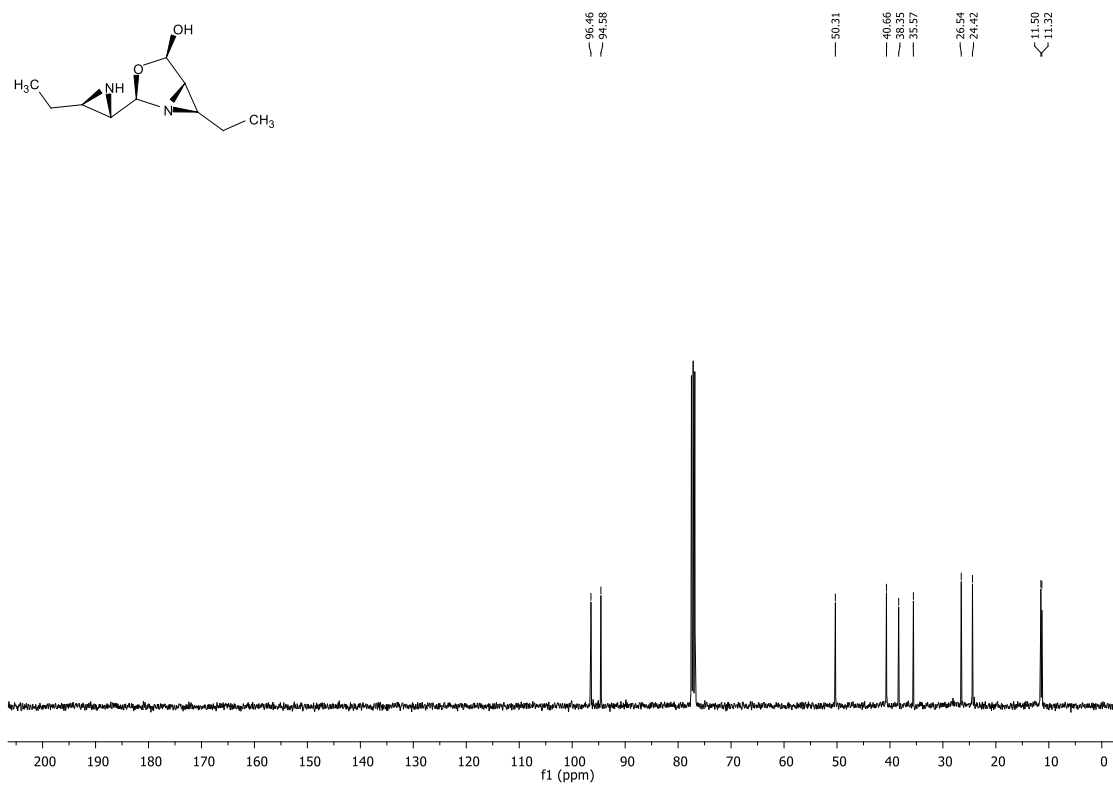


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	4.910	6486980	100.00	2451317

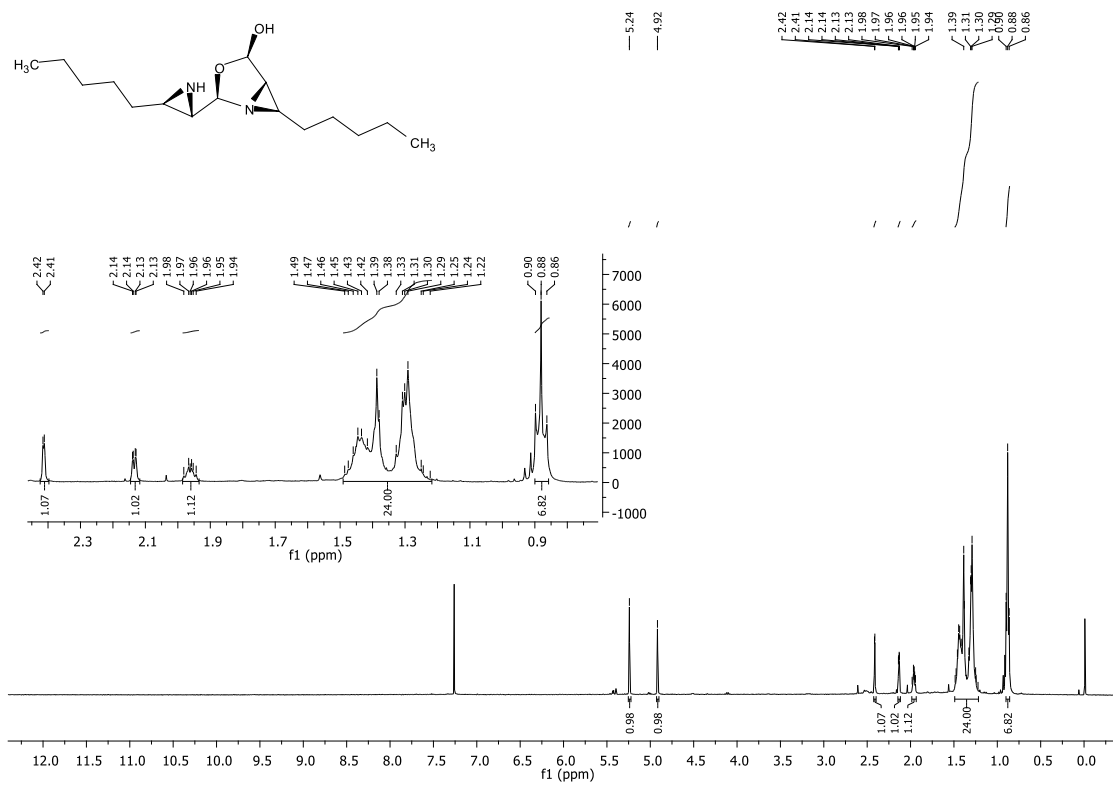
Cromatograma do diastereoisômero majoritário do composto **11ee** assimétrico, coluna Trefoil, AMY1 (60% *i*PrOH, gradiente, 1,0 ml/min, 2000 psi, 35 °C).



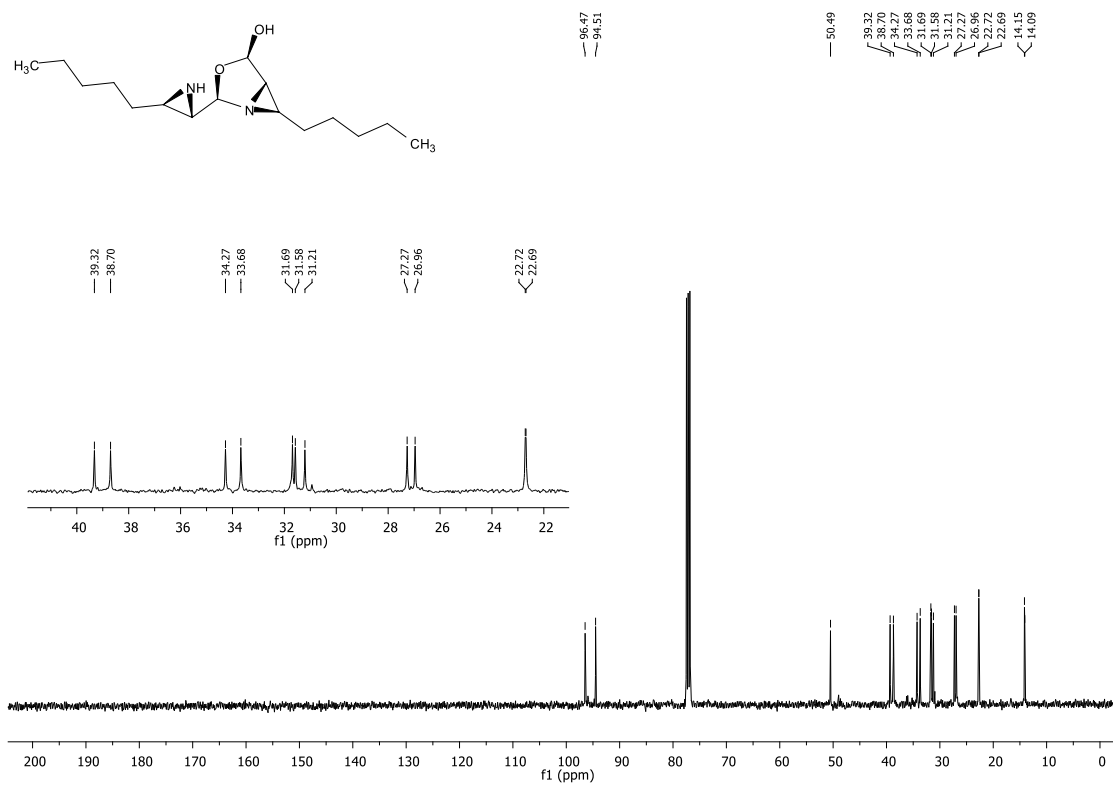
Espectro de RMN ¹H do composto 12a em CDCl₃ a 400 MHz.



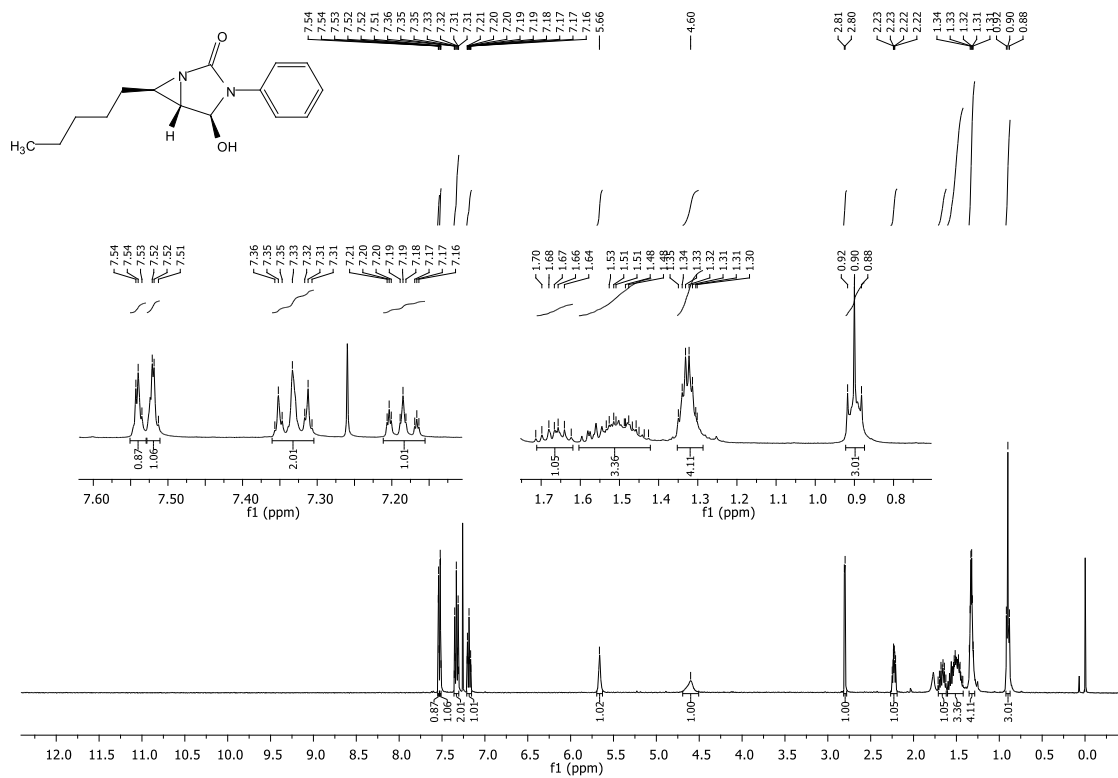
Espectro de RMN ¹³C do composto 12a em CDCl₃ a 100 MHz.



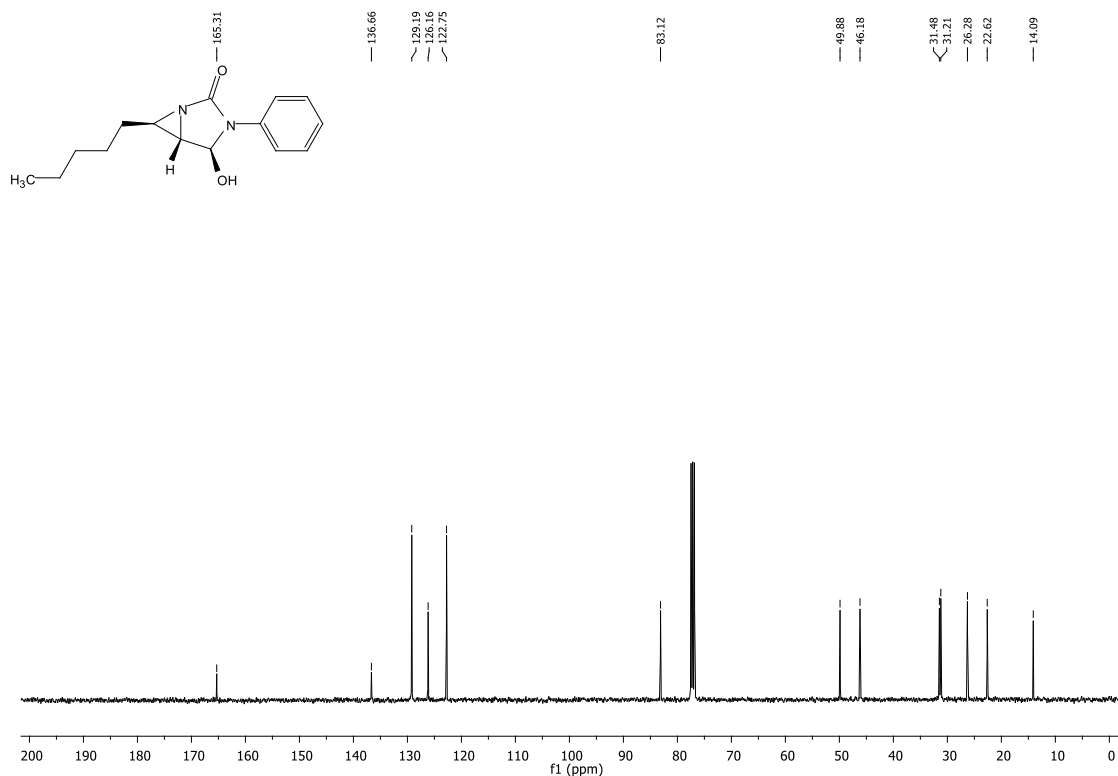
Espectro de RMN ¹H do composto **12b** em CDCl₃ a 400 MHz.



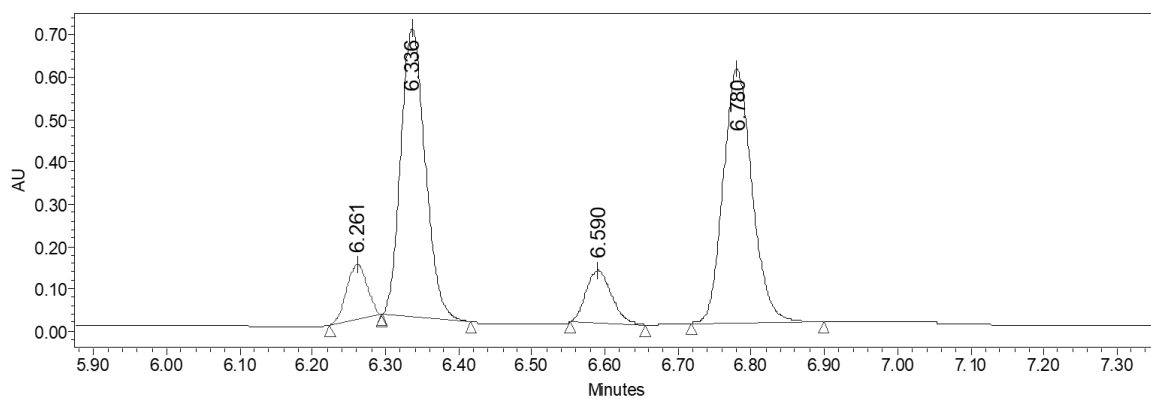
Espectro de RMN ¹³C do composto **12b** em CDCl₃ a 100 MHz.



Espectro de RMN ¹H do composto **15a** em CDCl₃ a 400 MHz.

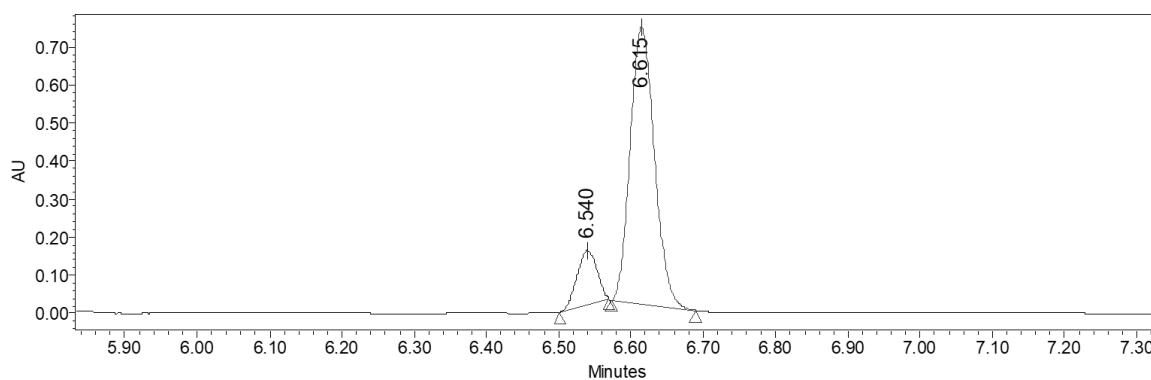


Espectro de RMN ¹³C do composto **15a** em CDCl₃ a 100 MHz.



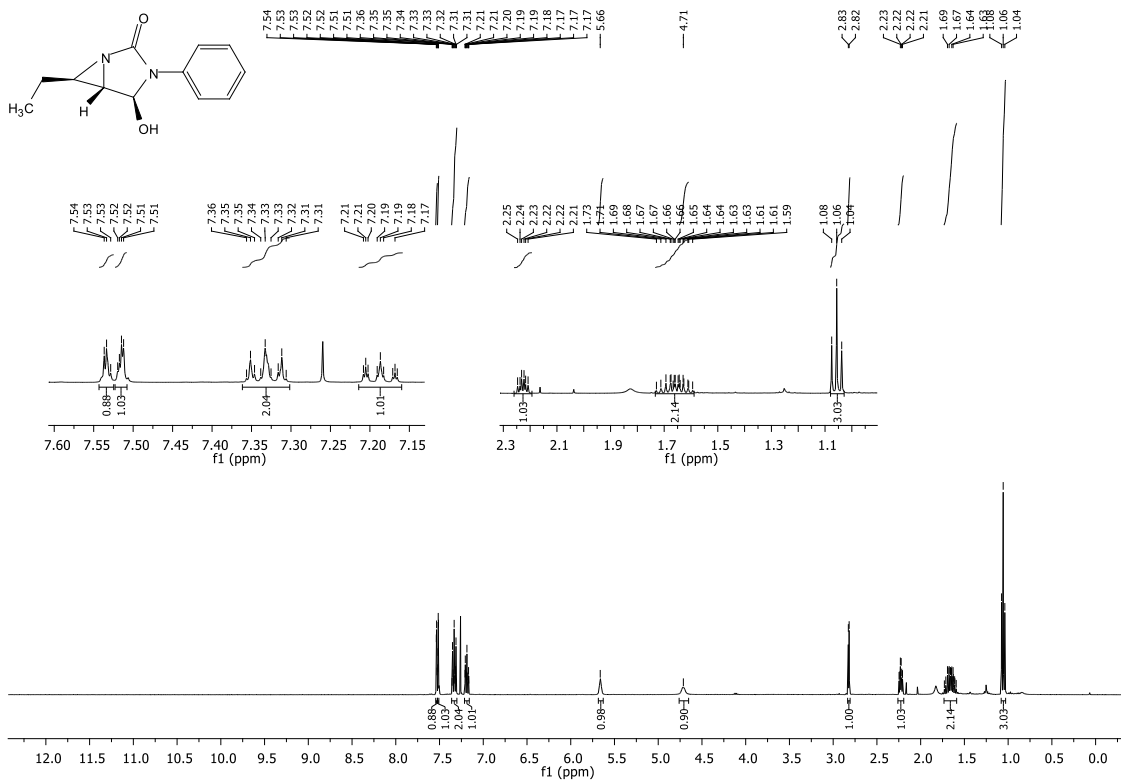
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	6.261	372418	6.72	190537
2	6.336	2318418	41.82	1002377
3	6.590	456143	8.23	187754
4	6.780	2397294	43.24	884415

Cromatograma do composto **15a** racêmico, coluna Trefoil, CEL2 (70% EtOH, gradiente, 0,4 ml/min, 2000 psi, 40 °C).

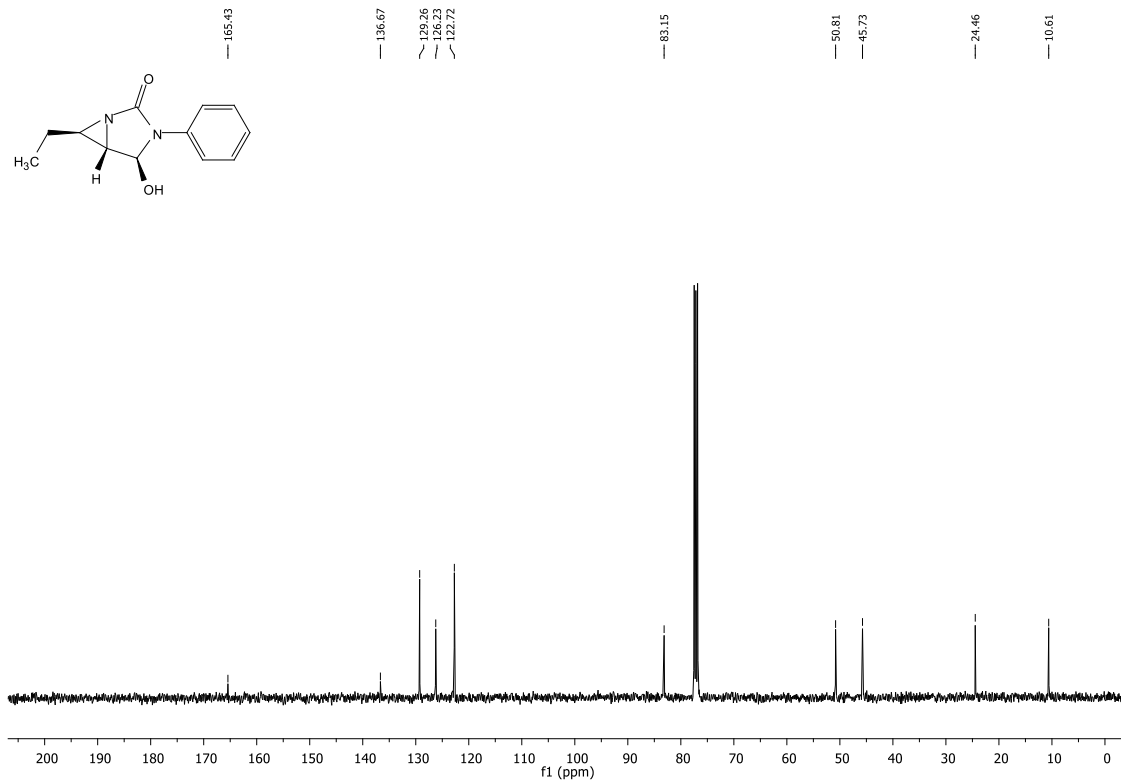


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	6.540	675423	13.43	345802
2	6.615	4355224	86.57	1885546

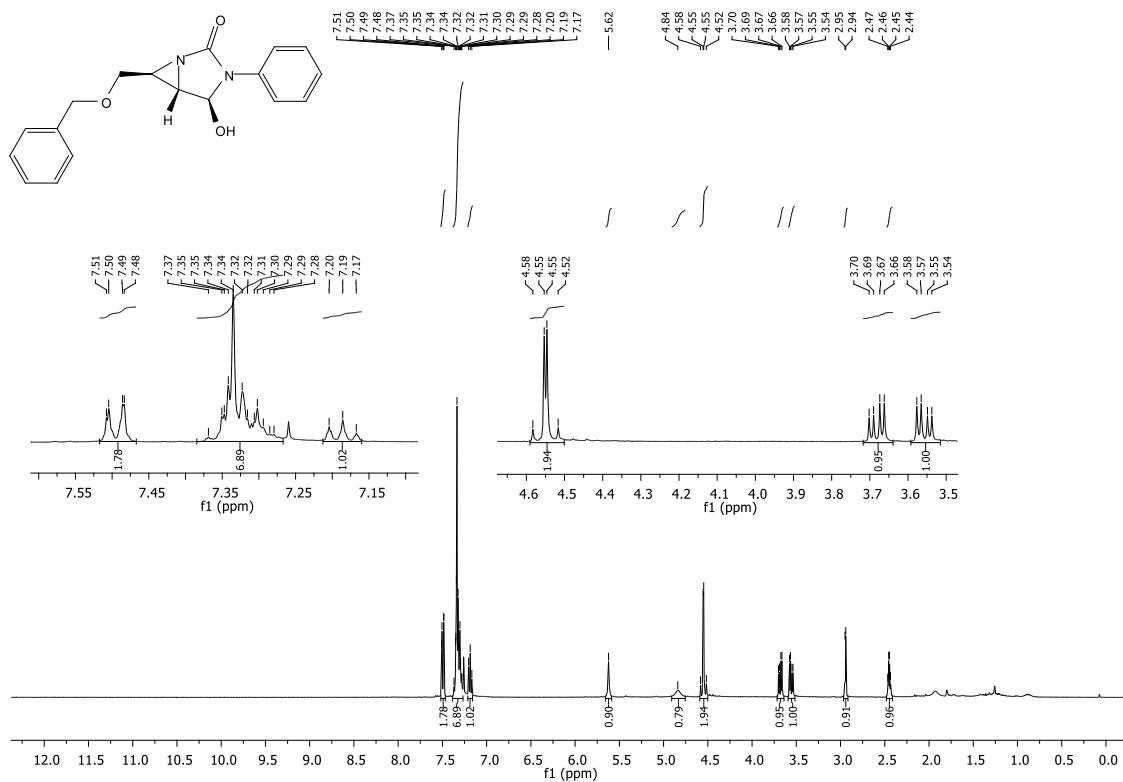
Cromatograma do composto **15a** assimétrico, coluna Trefoil, CEL2 (70% EtOH, gradiente, 0,4 ml/min, 2000 psi, 40 °C).



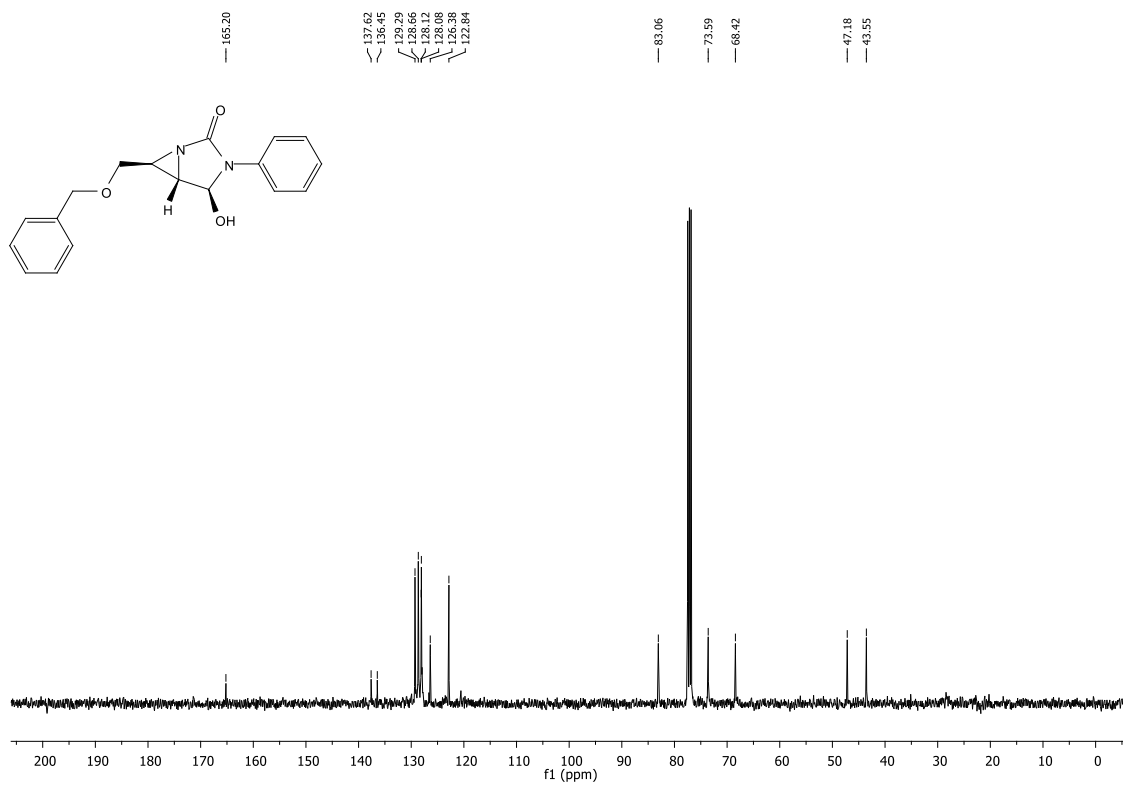
Espectro de RMN ¹H do composto **15b** em CDCl₃ a 400 MHz.



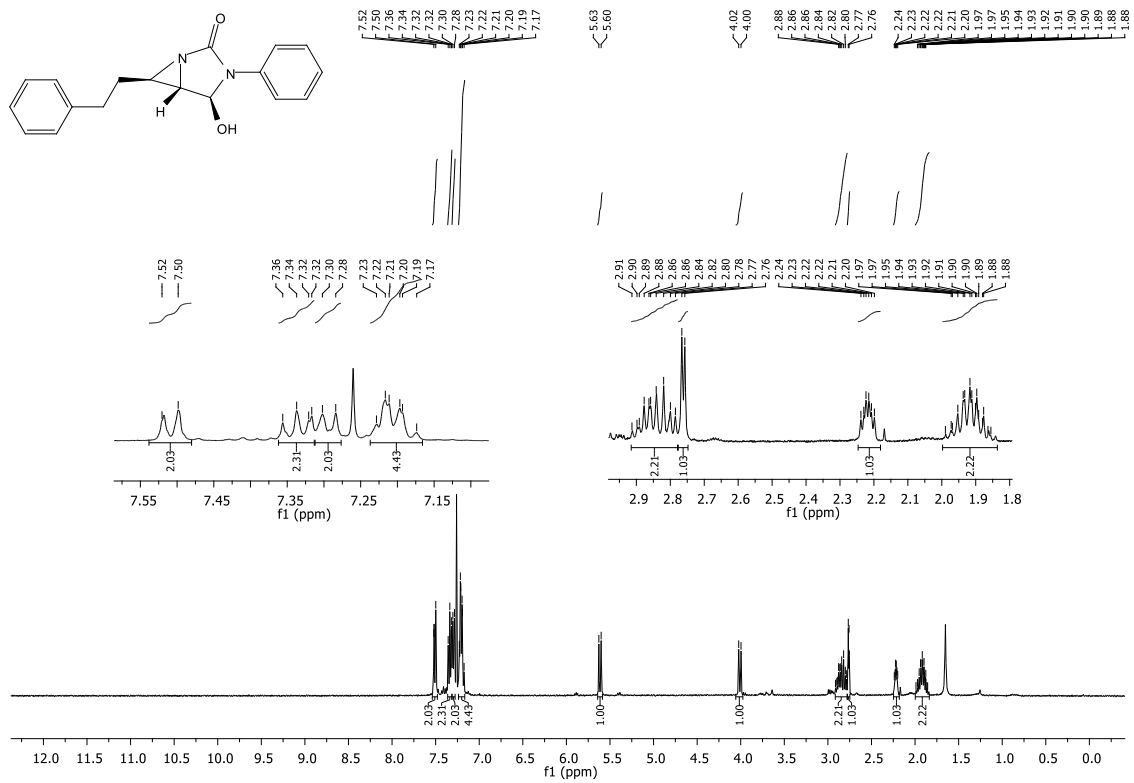
Espectro de RMN ¹³C do composto **15b** em CDCl₃ a 100 MHz.



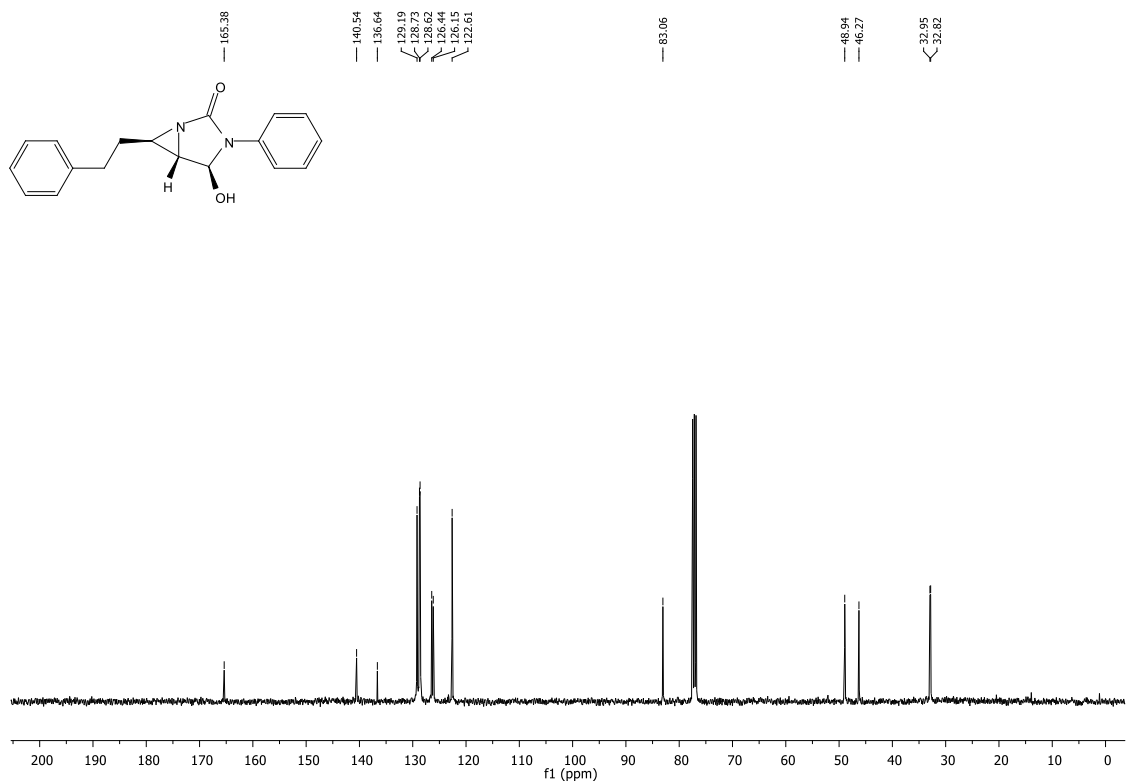
Espectro de RMN ^1H do composto **15c** em CDCl_3 a 400 MHz.



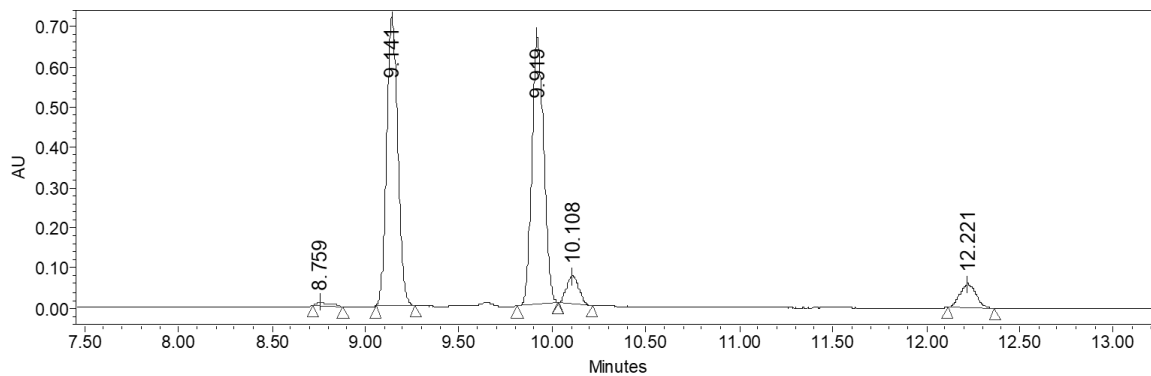
Espectro de RMN ^{13}C do composto **15c** em CDCl_3 a 100 MHz.



Espectro de RMN ¹H do composto **15d** em CDCl₃ a 400 MHz.

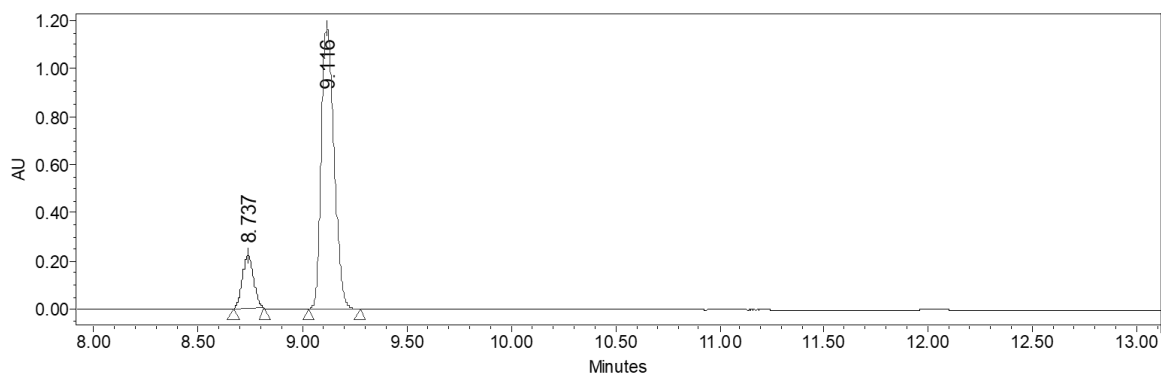


Espectro de RMN ¹³C do composto **15d** em CDCl₃ a 100 MHz.



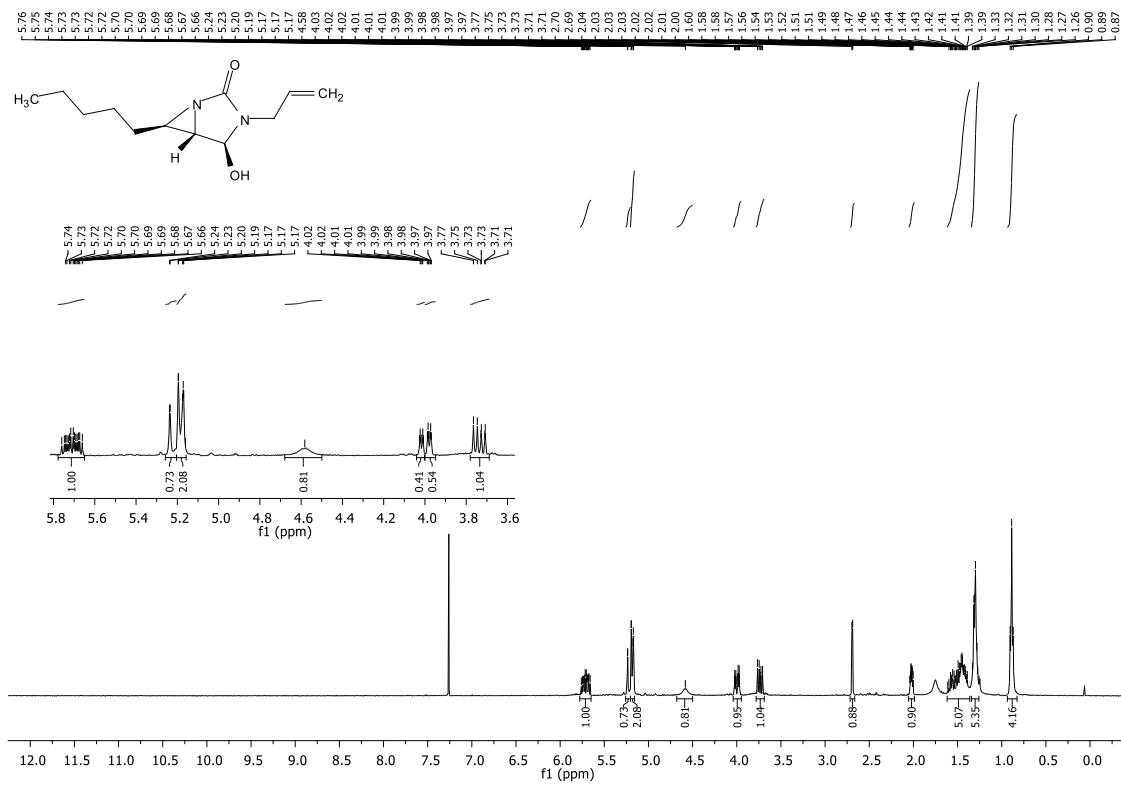
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	8.759	46995	0.70	8598
2	9.141	3002299	44.95	718142
3	9.919	2942740	44.06	665050
4	10.108	322165	4.82	70636
5	12.221	364414	5.46	59484

Cromatograma do composto **15d** racêmico, coluna Trefoil, CEL2 (40% MeOH, gradiente, 0,8 ml/min, 2000 psi, 40 °C).

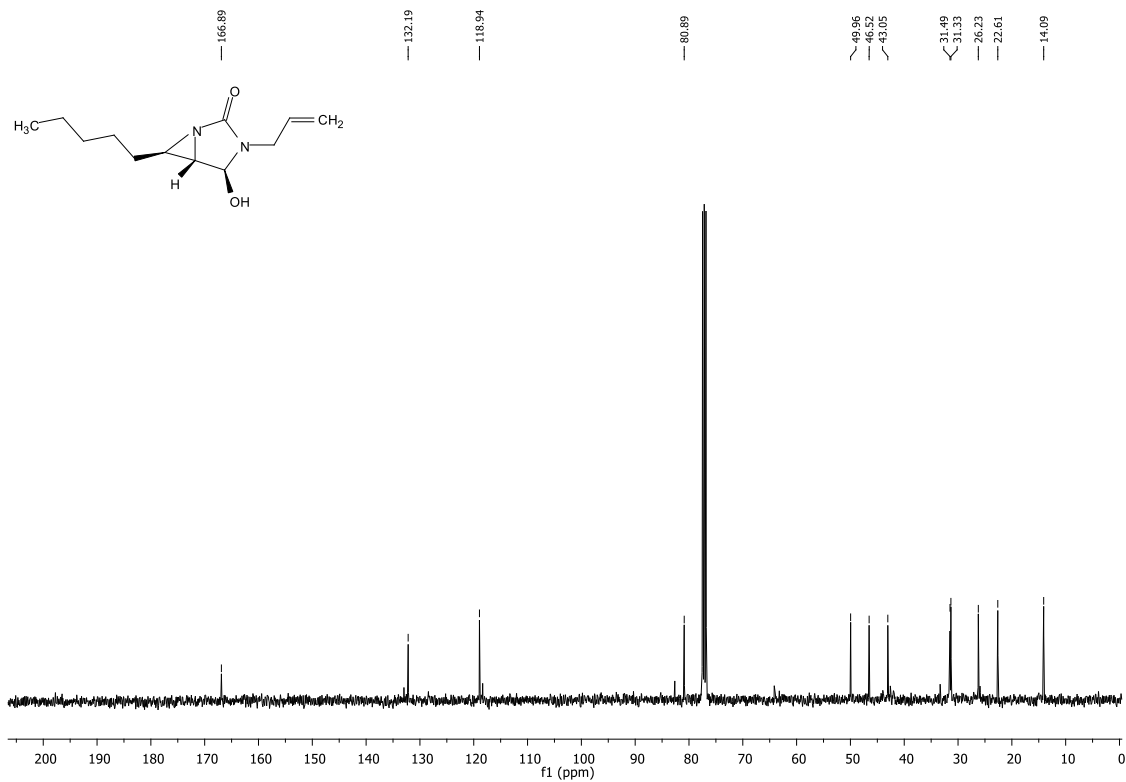


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	8.737	813468	14.10	220486
2	9.116	4954976	85.90	1165611

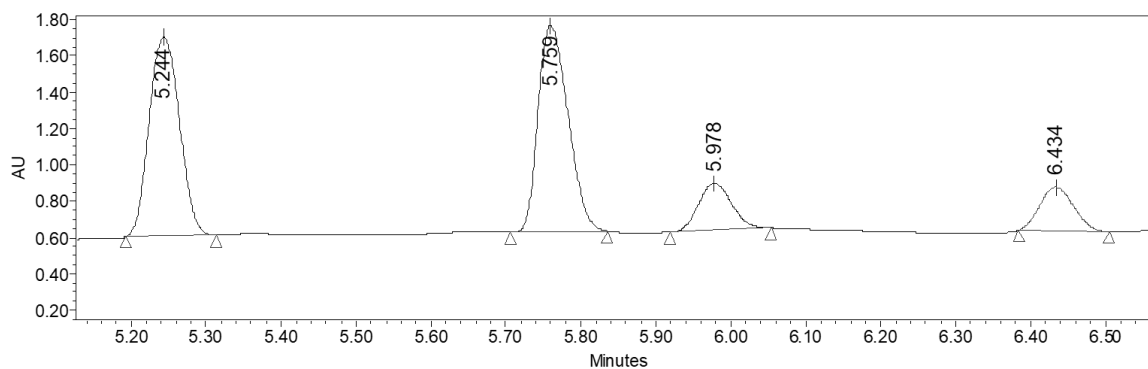
Cromatograma do composto **15d** assimétrico, coluna Trefoil, CEL2 (40% MeOH, gradiente, 0,8 ml/min, 2000 psi, 40 °C).



Espectro de RMN ¹H do composto **15e** em CDCl₃ a 400 MHz.

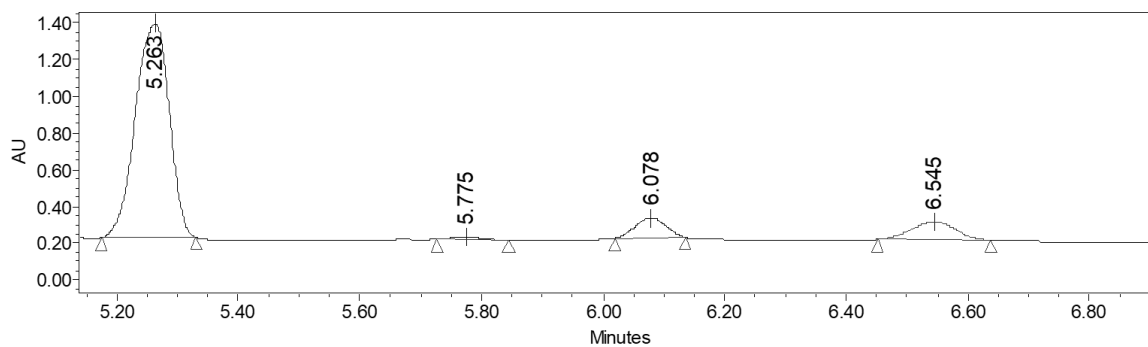


Espectro de RMN ¹³C do composto **15e** em CDCl₃ a 400 MHz.



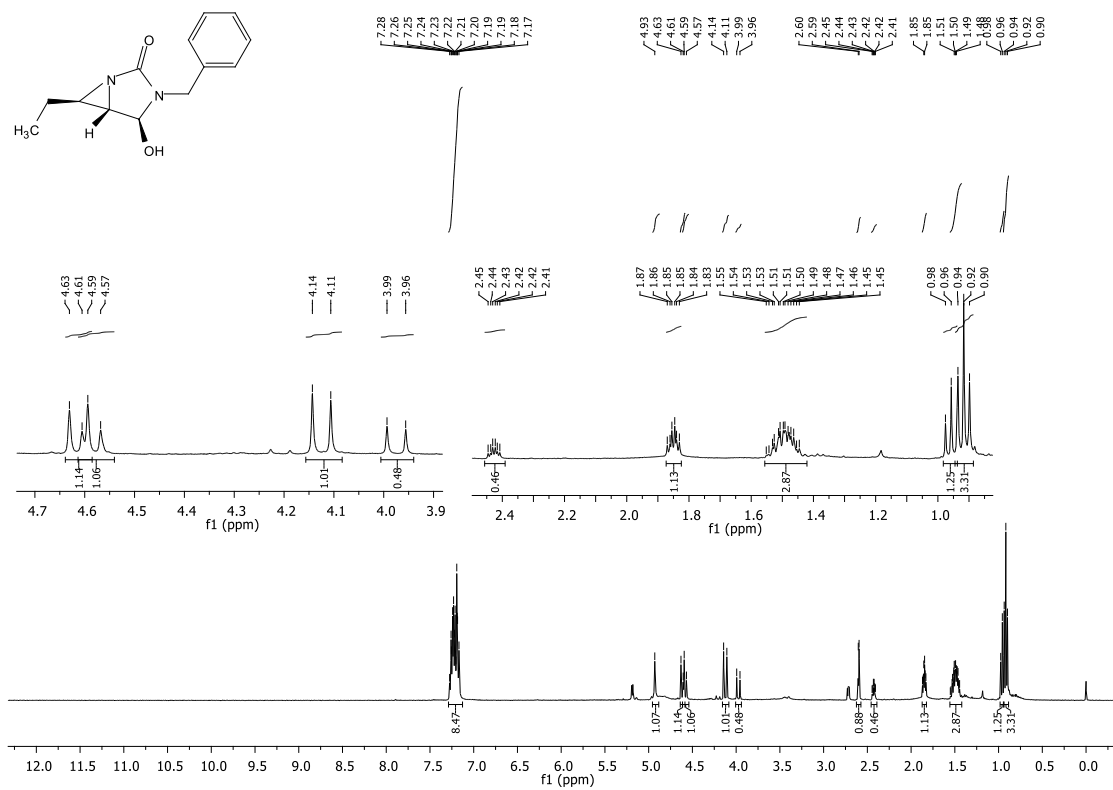
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	5.244	3099624	39.59	1098373
2	5.759	3165944	40.44	1135789
3	5.978	796626	10.18	258510
4	6.434	766529	9.79	241902

Cromatograma do composto **15e** racêmico, coluna Trefoil, CEL2 (40% *i*PrOH, gradiente, 0,8 ml/min, 2000 psi, 40 °C).

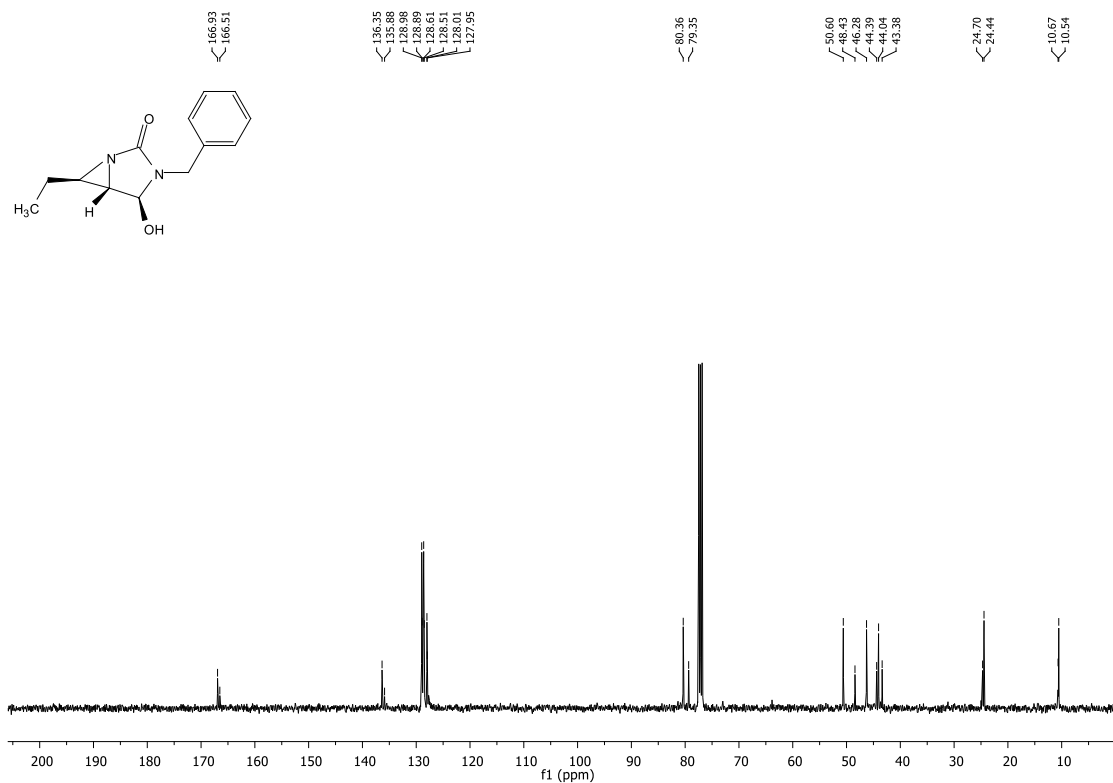


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	5.263	4538944	82.82	1169903
2	5.775	52829	0.96	15752
3	6.078	377382	6.89	107934
4	6.545	511302	9.33	99597

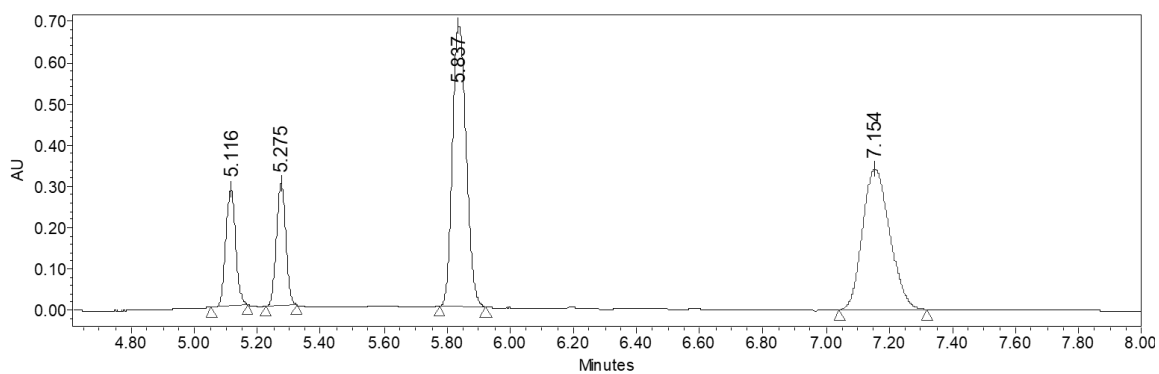
Cromatograma do composto **15e** assimétrico, coluna Trefoil, CEL2 (40% *i*PrOH, gradiente, 0,8 ml/min, 2000 psi, 40 °C).



Espectro de RMN ¹H do composto **15f** em CDCl₃ a 400 MHz.

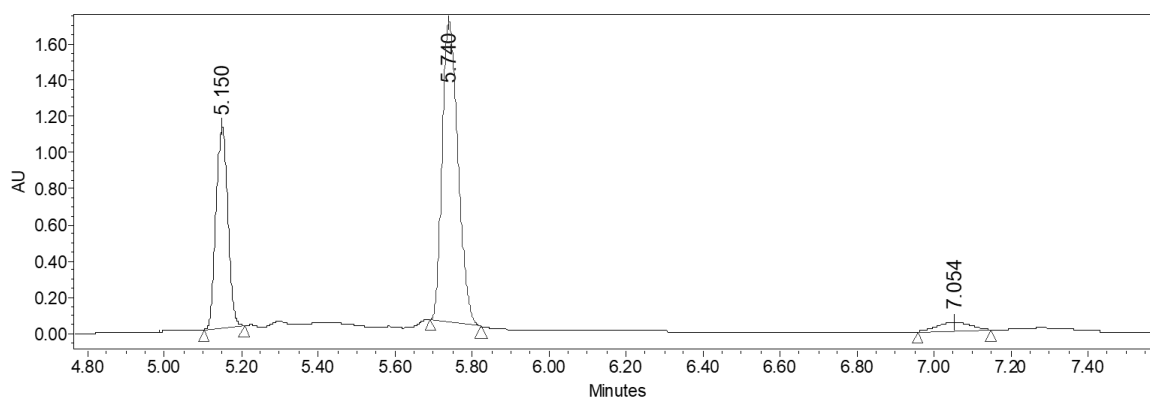


Espectro de RMN ¹³C do composto **15f** em CDCl₃ a 100 MHz.



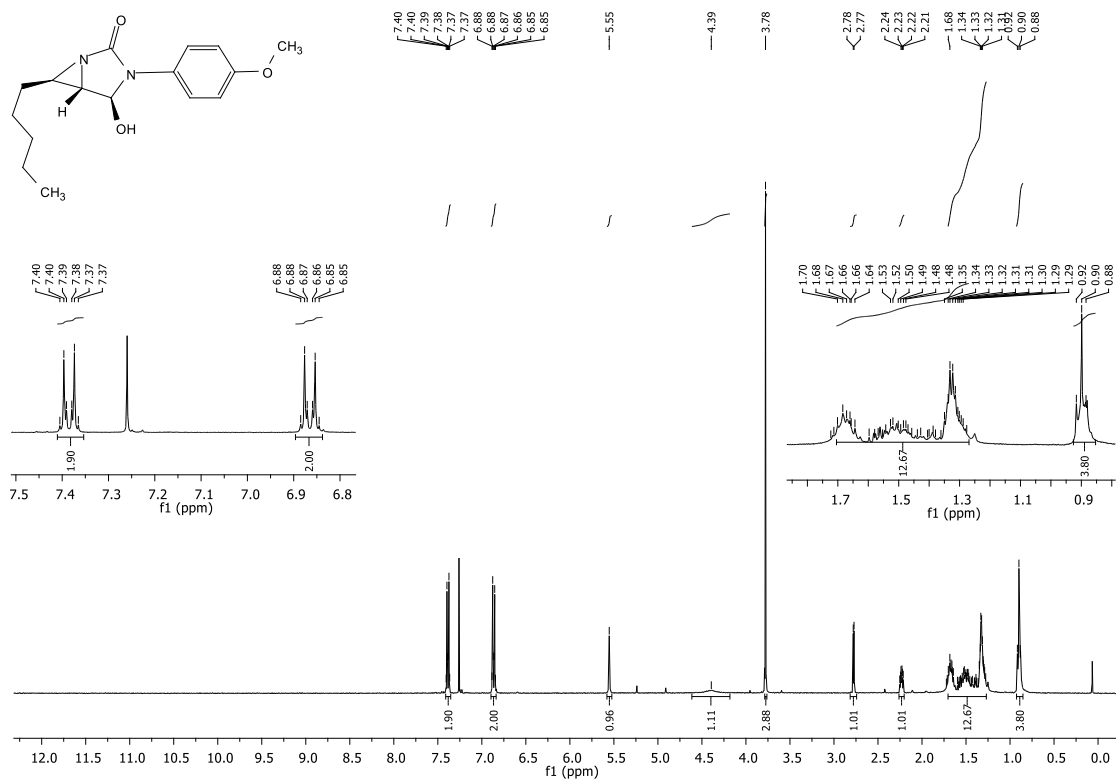
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	5.116	625426	11.72	282170
2	5.275	631247	11.83	295122
3	5.837	2027218	37.99	679044
4	7.154	2052463	38.46	341694

Cromatograma do composto **15f** racêmico, coluna Trefoil, CEL2 (60% ACN, gradiente, 1,0 ml/min, 2000 psi, 40 °C).

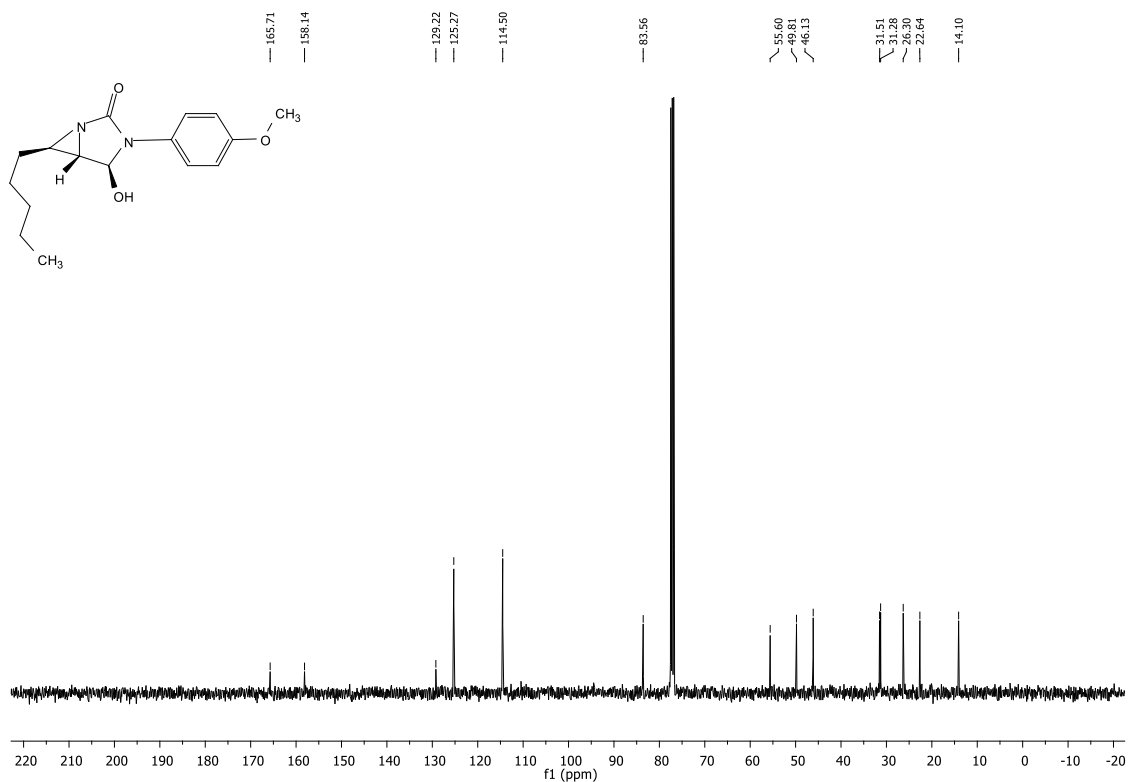


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	5.150	2798394	31.60	1319441
2	5.740	5717353	64.55	1938668
3	7.054	340941	3.85	58167

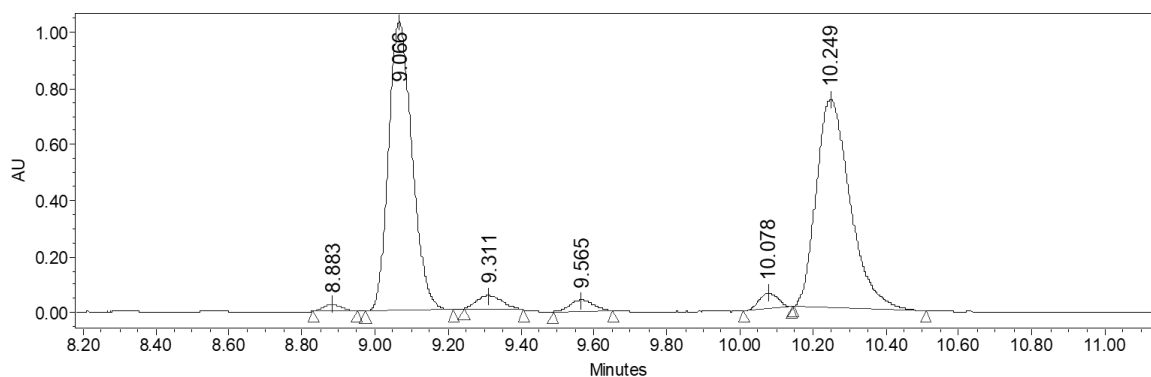
Cromatograma do composto **15f** assimétrico, coluna Trefoil, CEL2 (60% ACN, gradiente, 1,0 ml/min, 2000 psi, 40 °C).



Espectro de RMN ¹H do composto **15g** em CDCl₃ a 400 MHz.

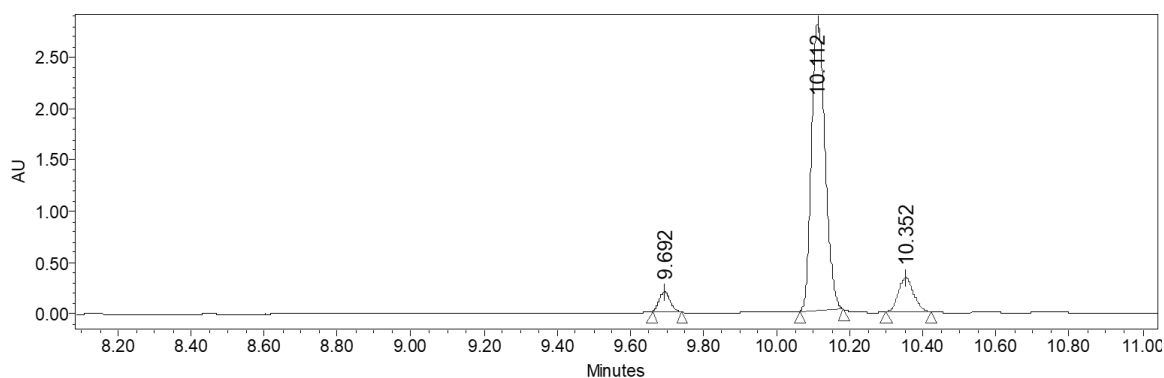


Espectro de RMN ¹³C do composto **15g** em CDCl₃ a 100 MHz.



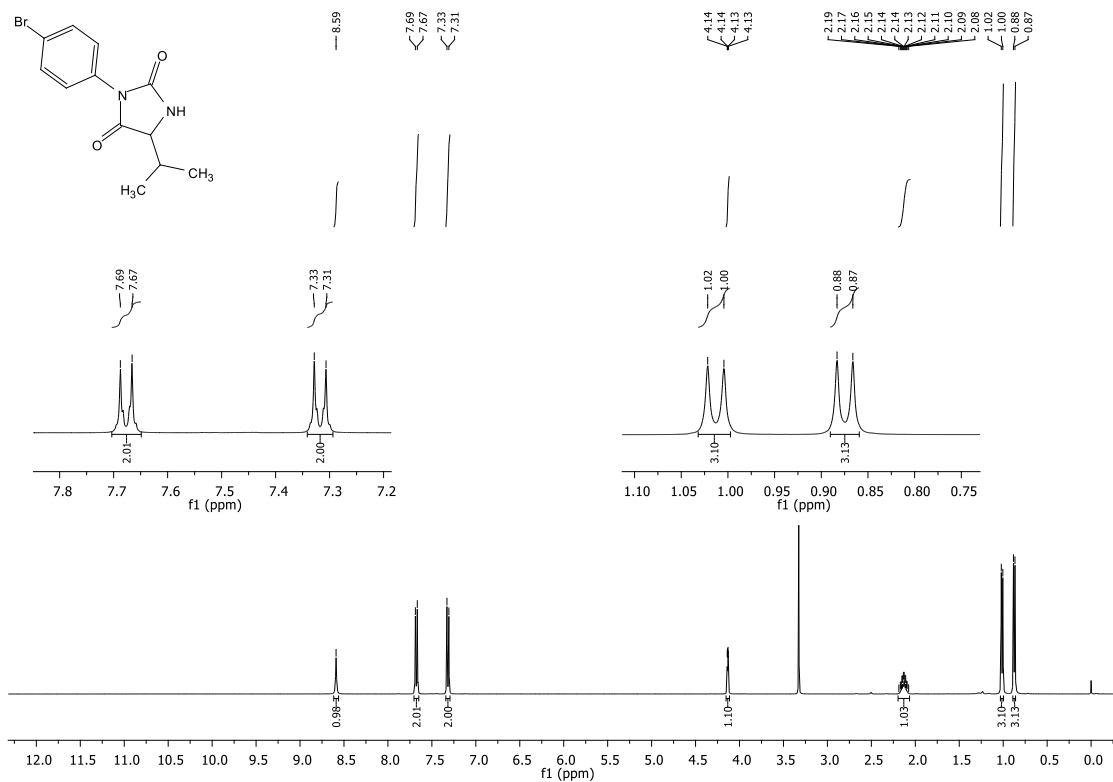
	Retention Time	Area	% Area	Height
1	8.883	84280	0.83	24035
2	9.066	4631616	45.75	1031596
3	9.311	237338	2.34	47709
4	9.565	179349	1.77	38766
5	10.078	201544	1.99	57003
6	10.249	4788745	47.31	742410

Cromatograma do composto **15g** racêmico, coluna Trefoil, CEL2 (50% *i*PrOH, gradiente, 0,6 ml/min, 2000 psi, 40 °C).

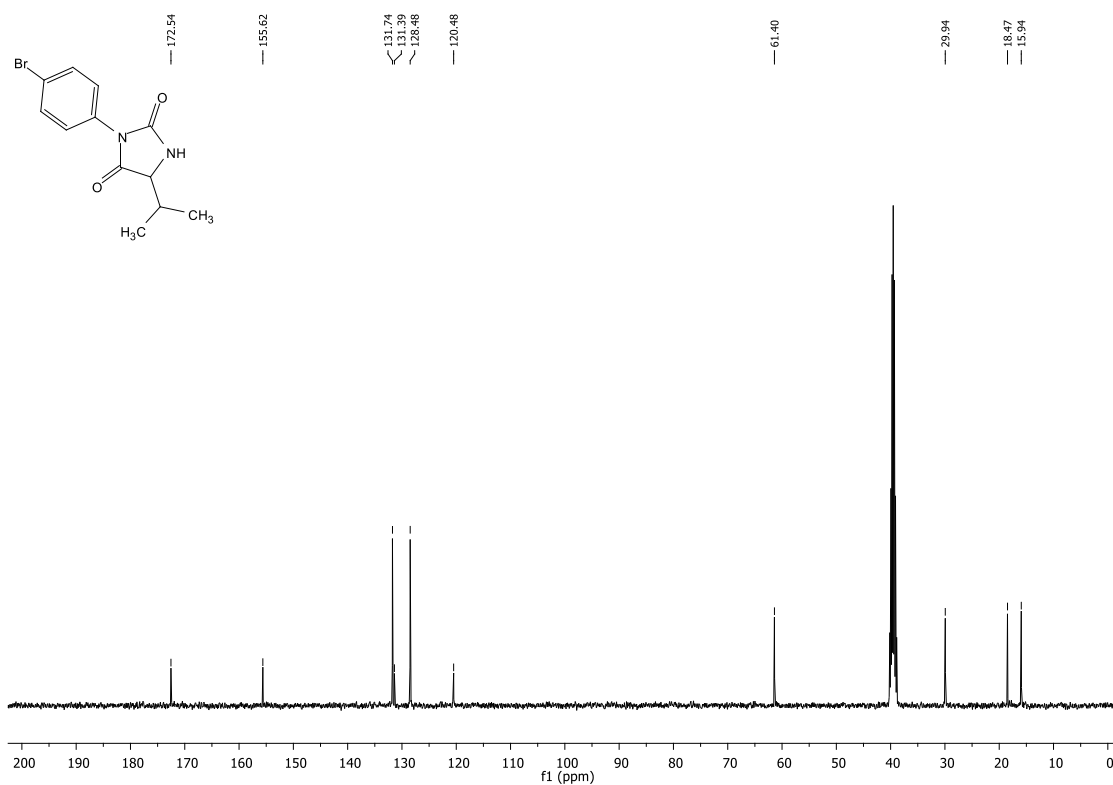


	Retention Time	Area	% Area	Height
1	9.692	398221	4.59	193700
2	10.112	7319815	84.39	2796179
3	10.352	956047	11.02	334527

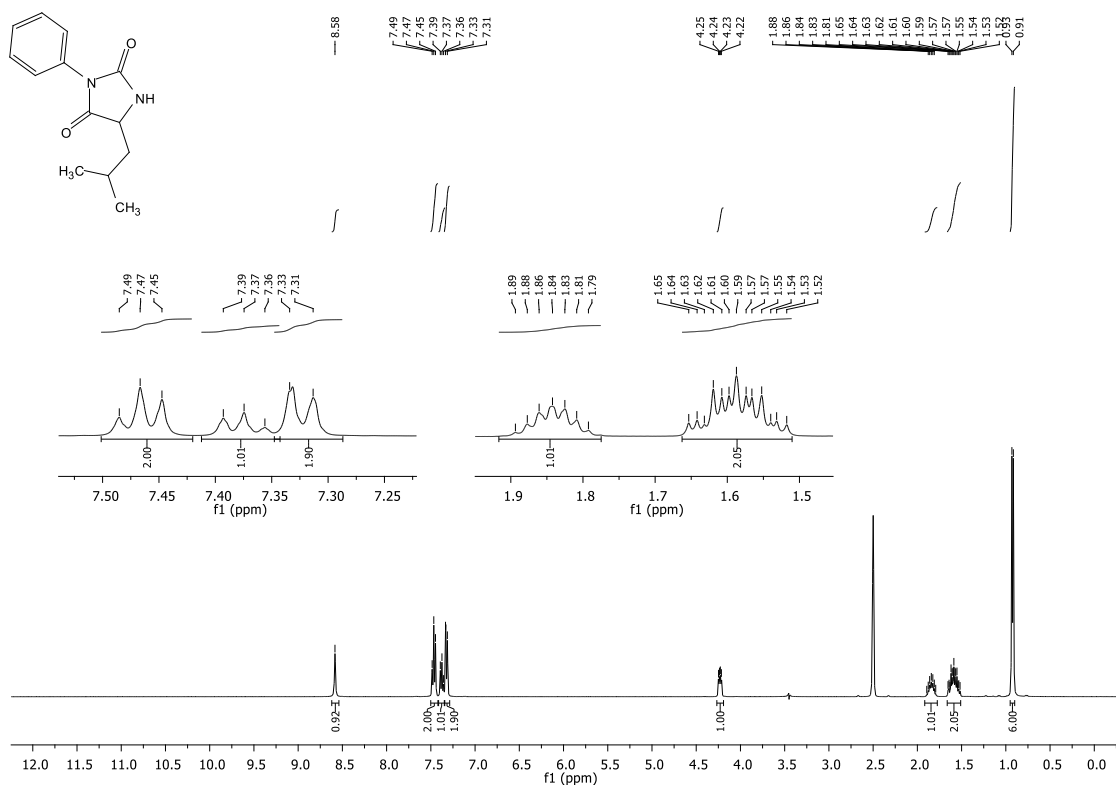
Cromatograma do composto **15g** assimétrico, coluna Trefoil, CEL2 (50% *i*PrOH, gradiente, 0,6 ml/min, 2000 psi, 40 °C).



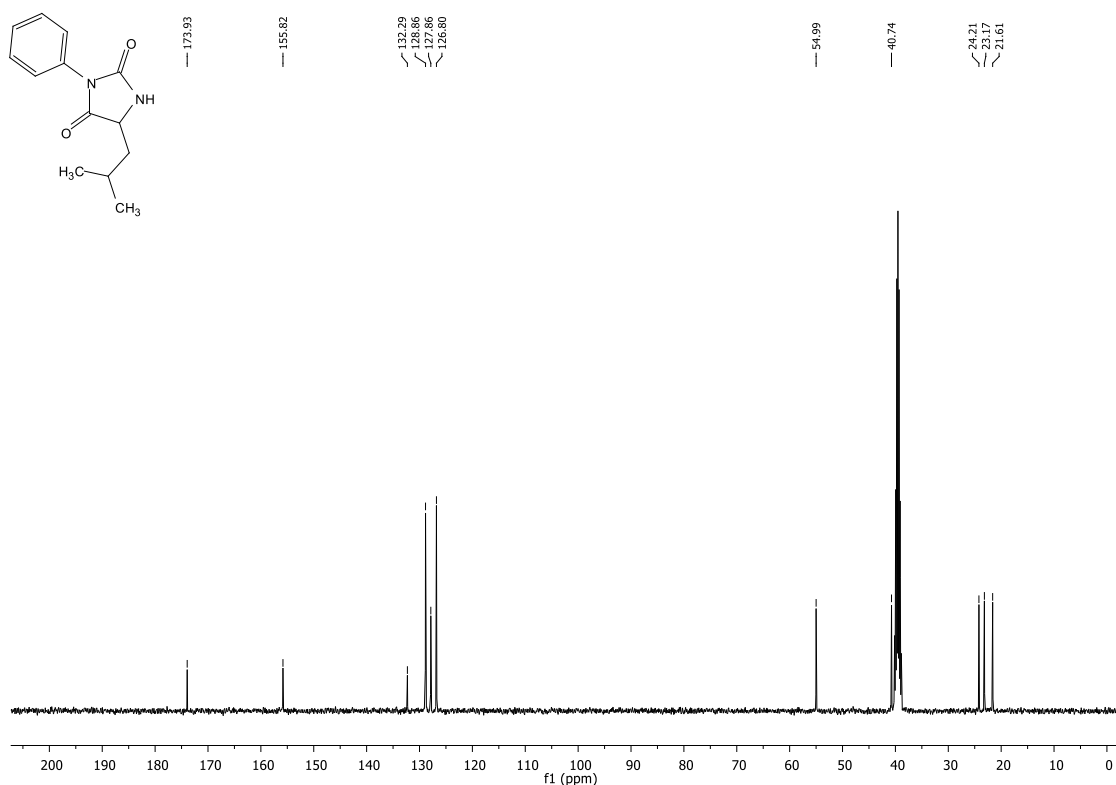
Espectro de RMN ¹H do composto **17a** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



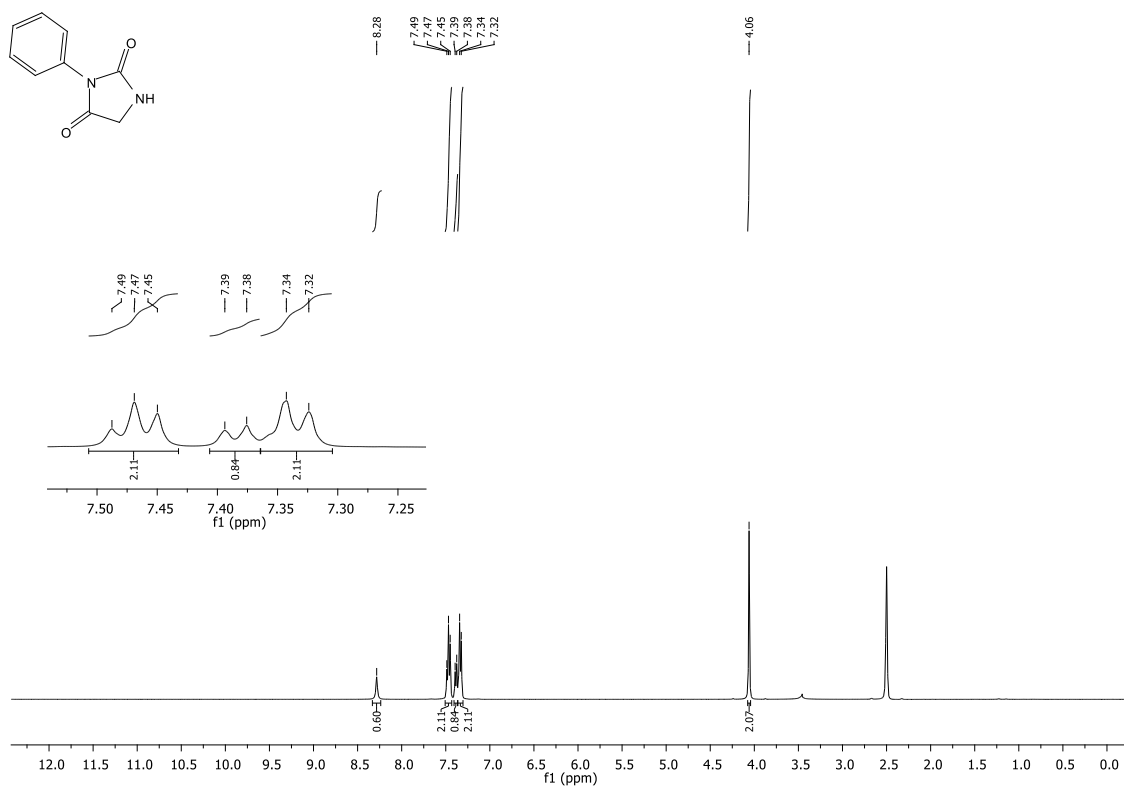
Espectro de RMN ¹³C do composto **17a** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



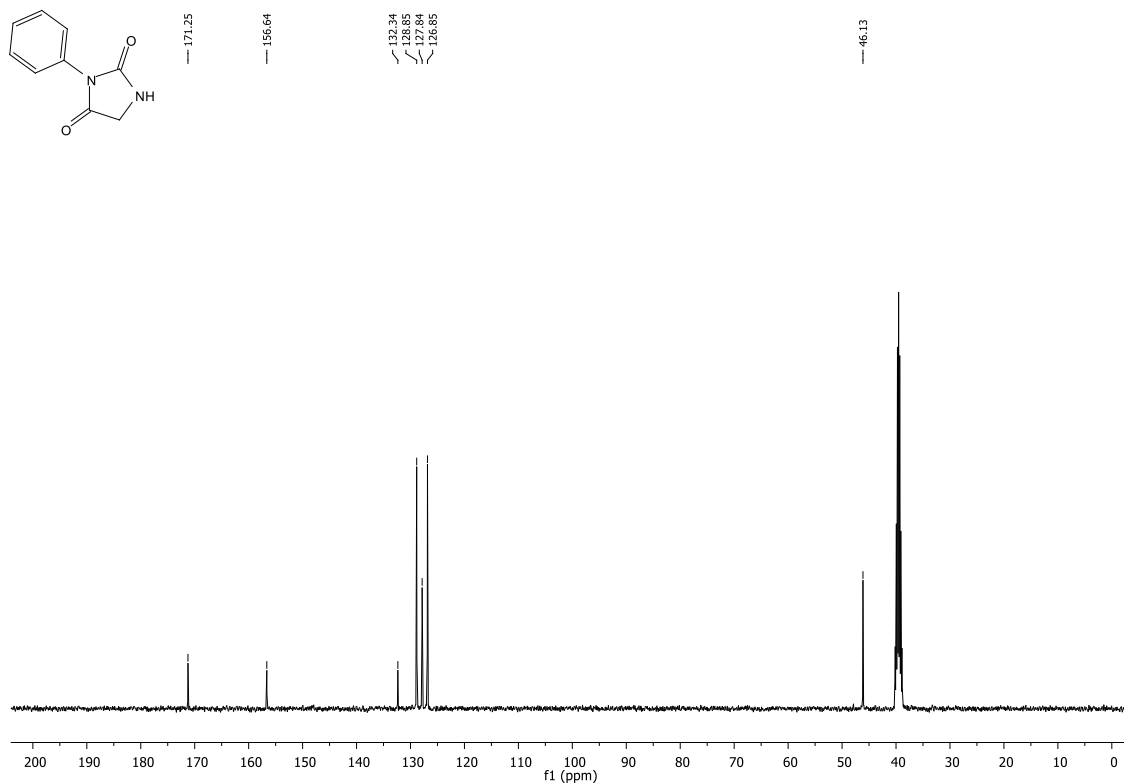
Espectro de RMN ¹H do composto **17b** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



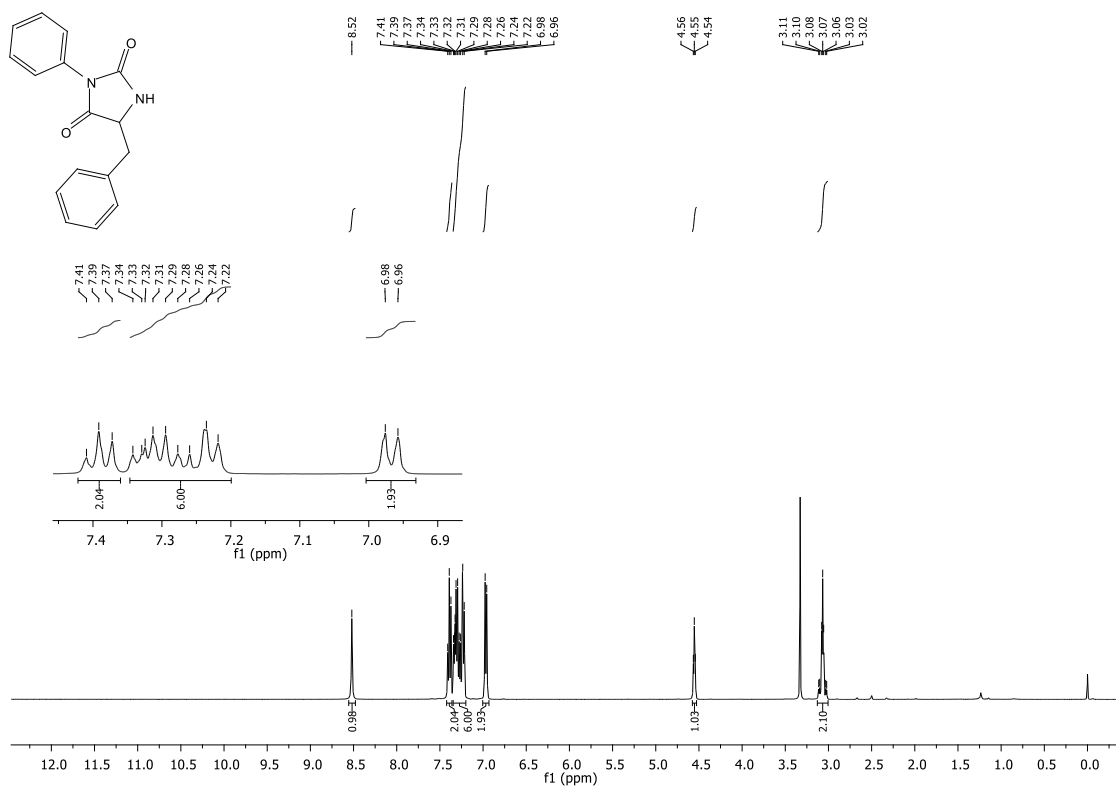
Espectro de RMN ¹³C do composto **17b** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



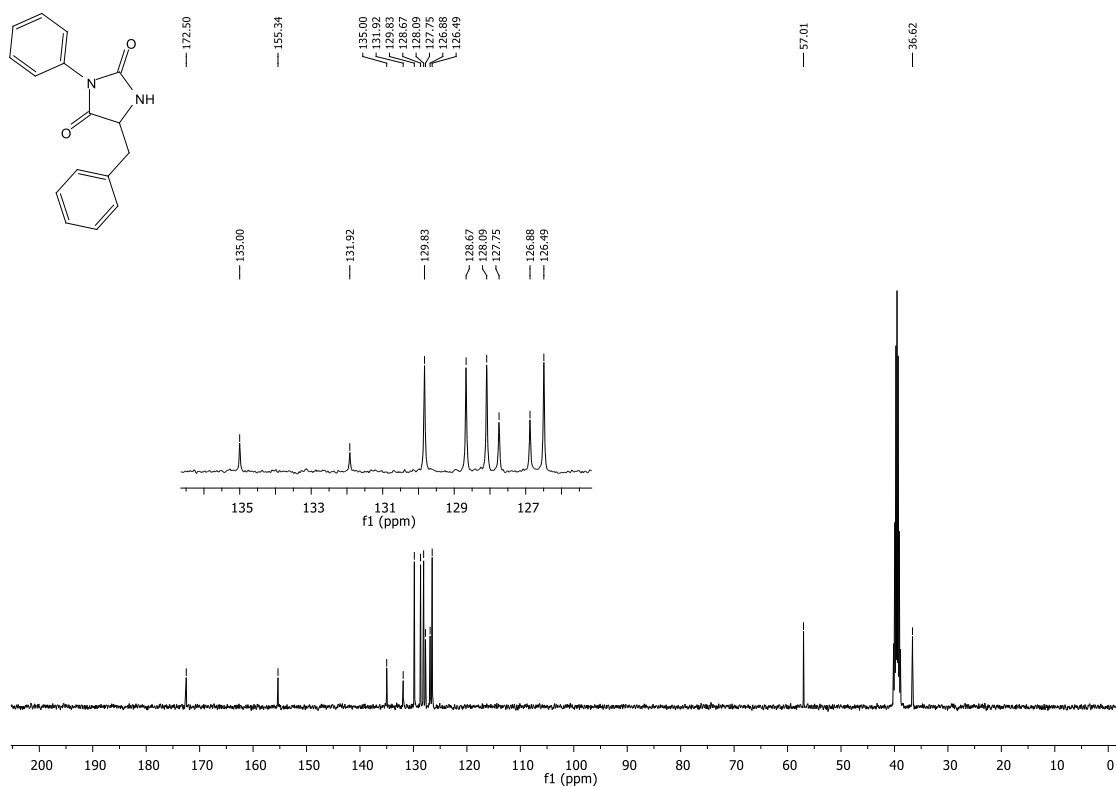
Espectro de RMN ¹H do composto **17c** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



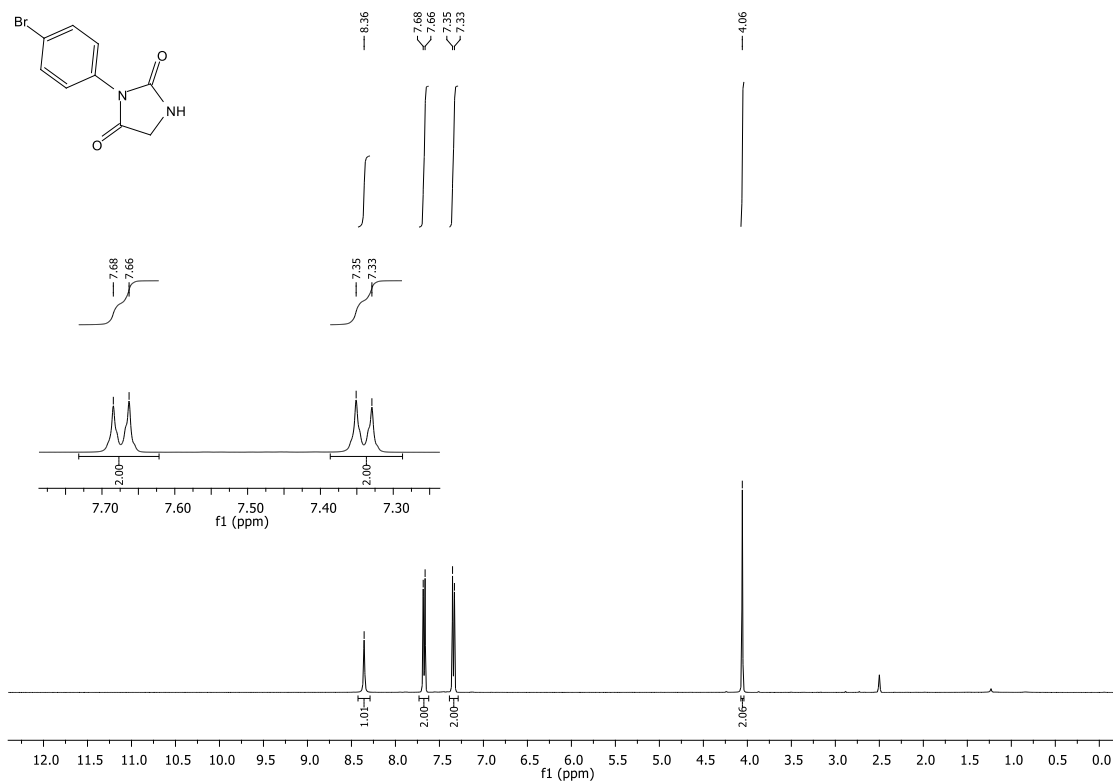
Espectro de RMN ¹³C do composto **17c** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



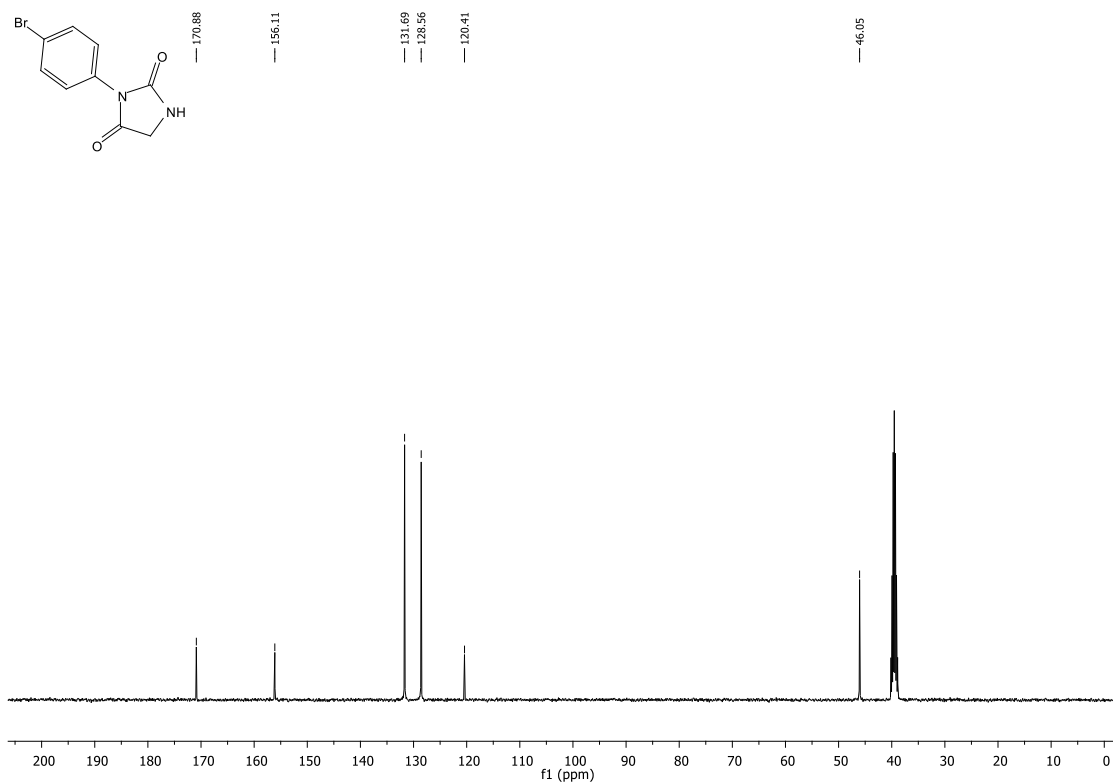
Espectro de RMN ¹H do composto **17d** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



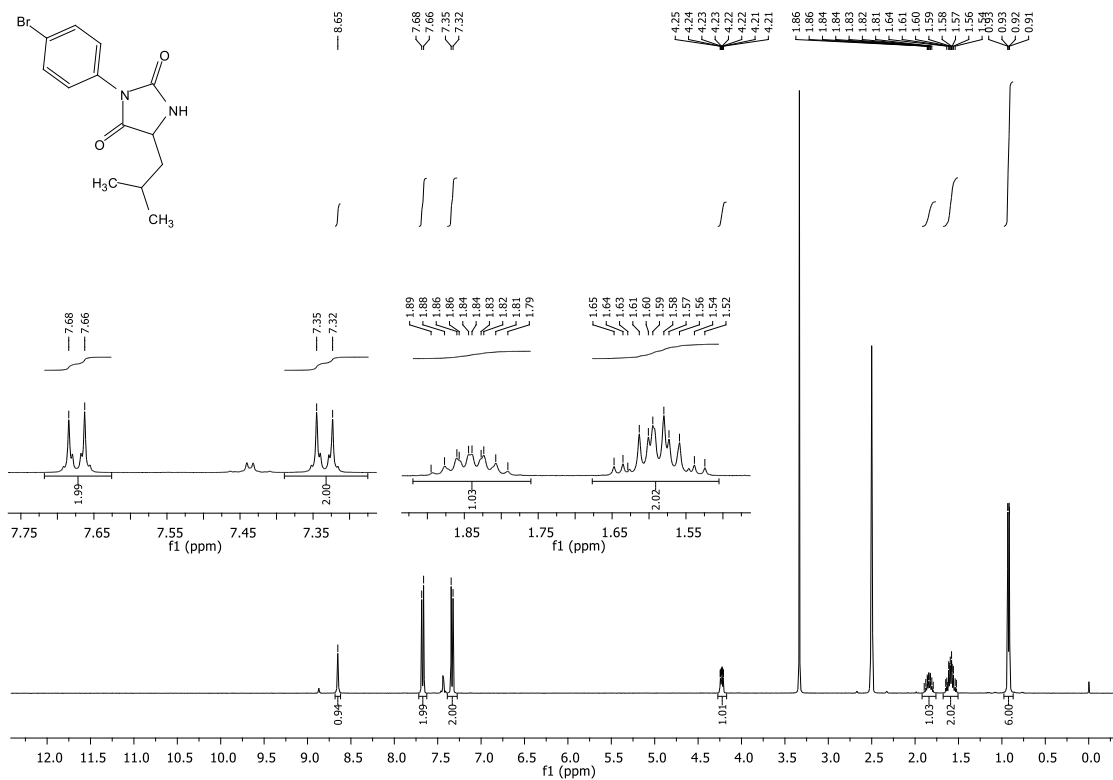
Espectro de RMN ¹³C do composto **17d** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



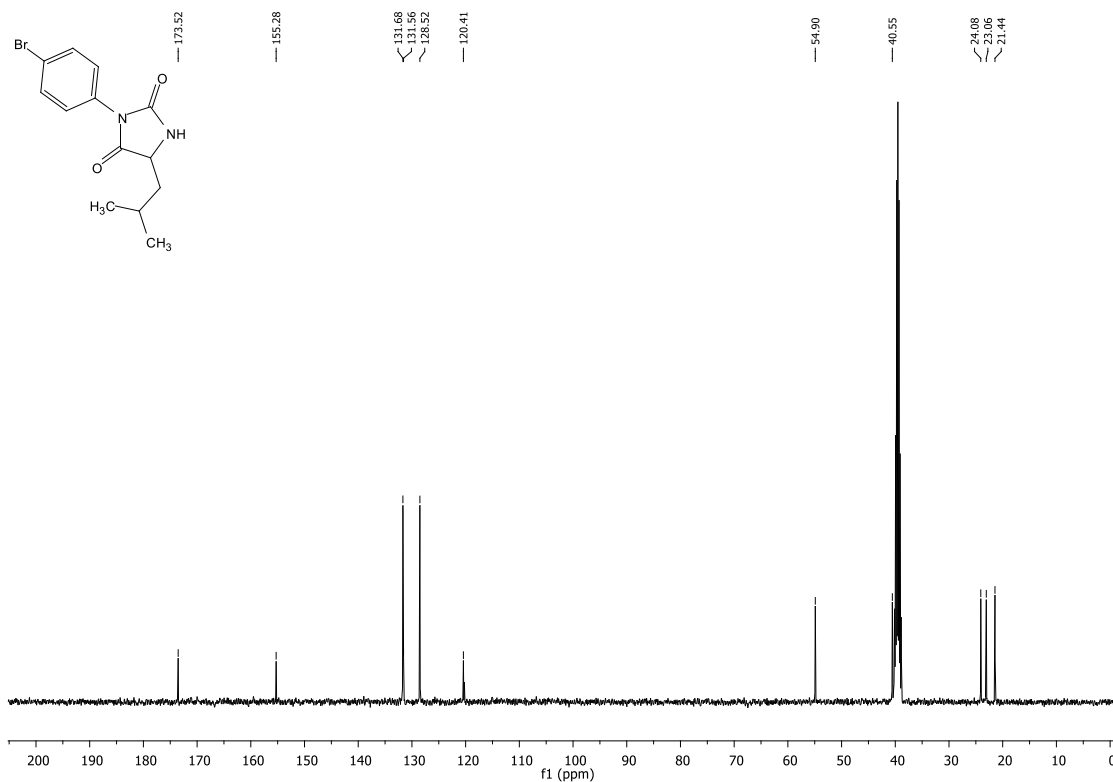
Espectro de RMN ^1H do composto **17e** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



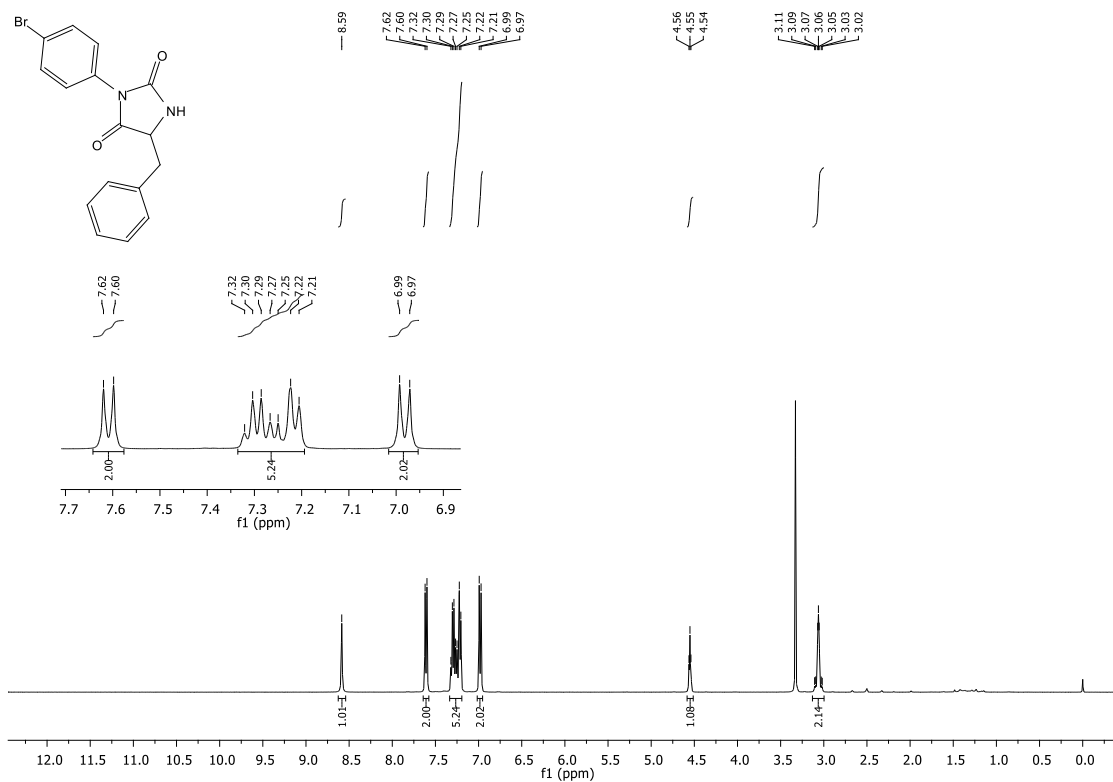
Espectro de RMN ^{13}C do composto **17e** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



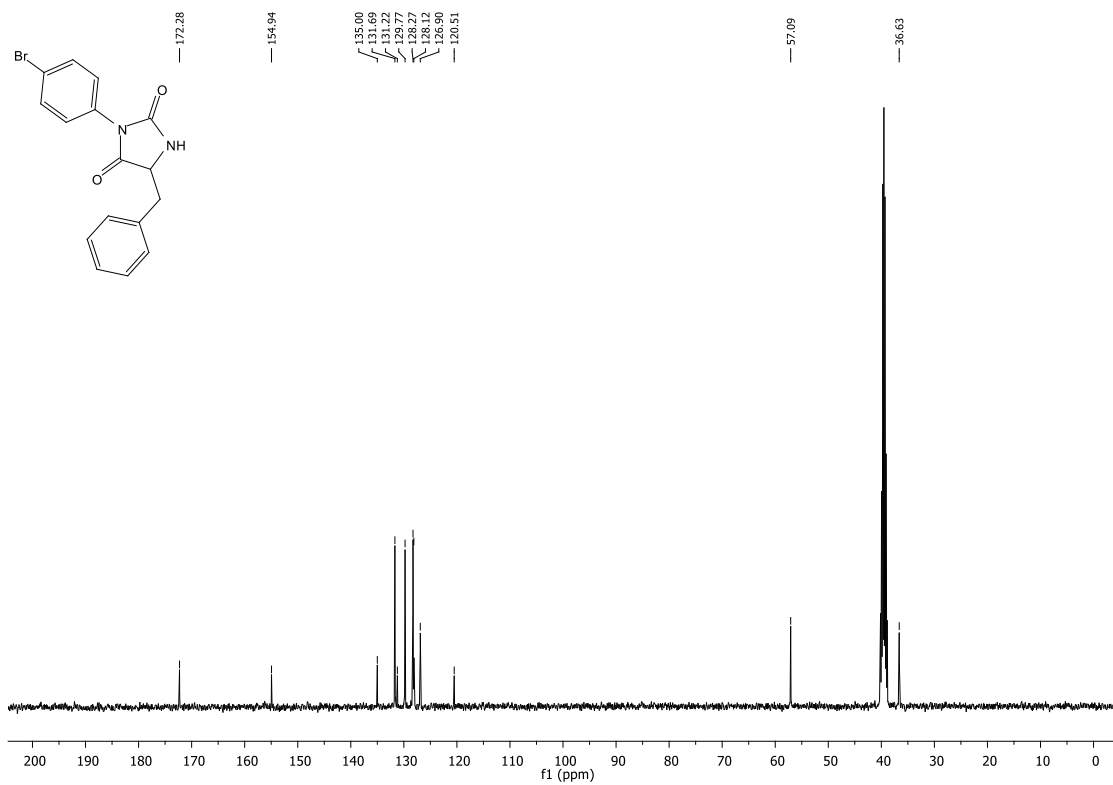
Espectro de RMN ¹H do composto **17f** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



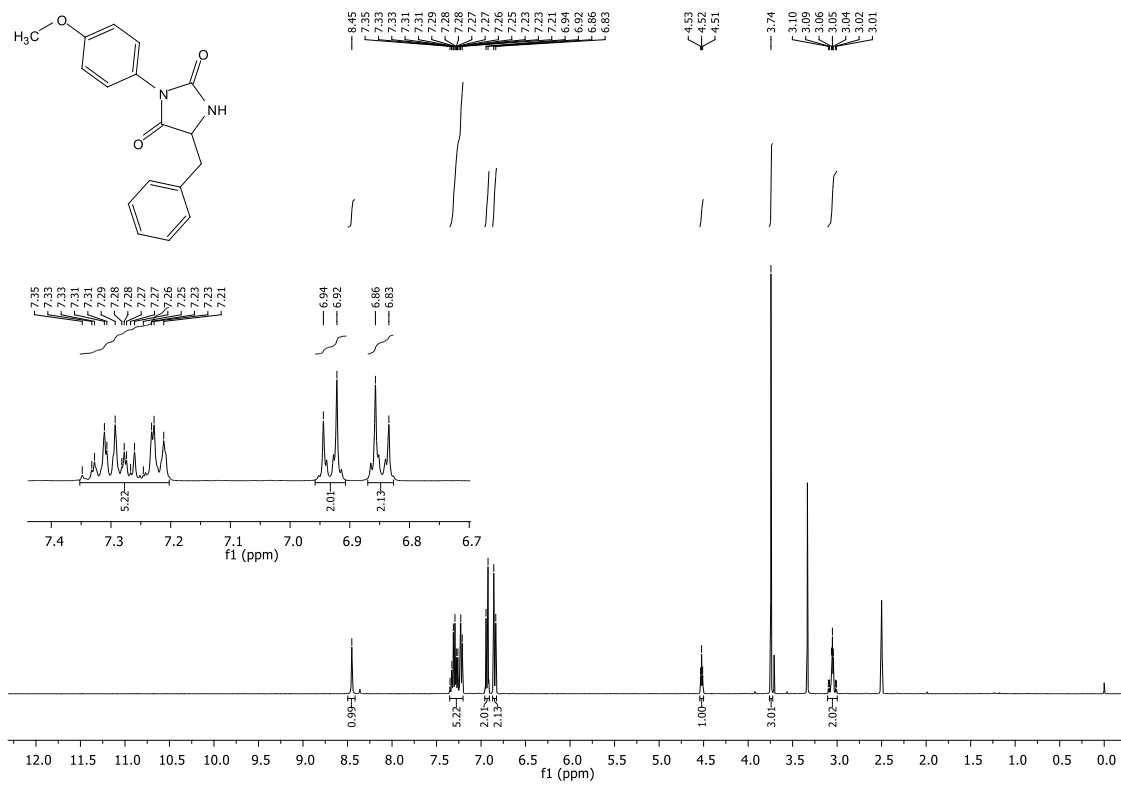
Espectro de RMN ¹³C do composto **17f** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



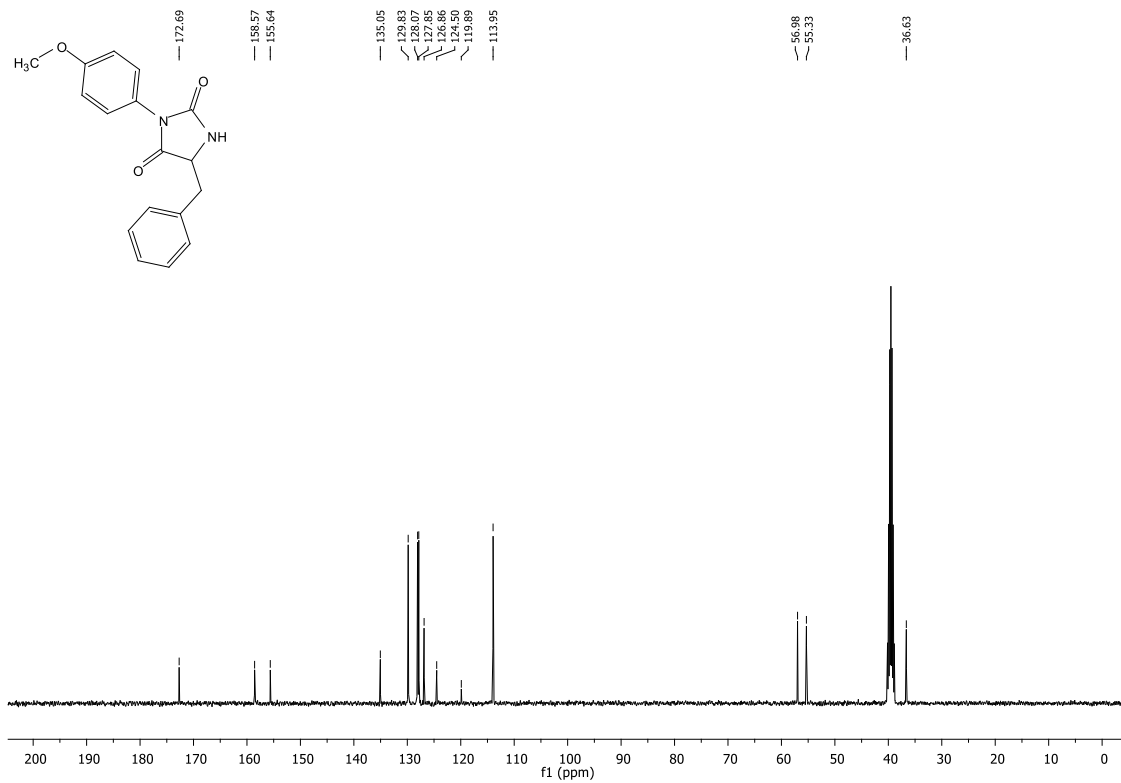
Espectro de RMN ^1H do composto **17g** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



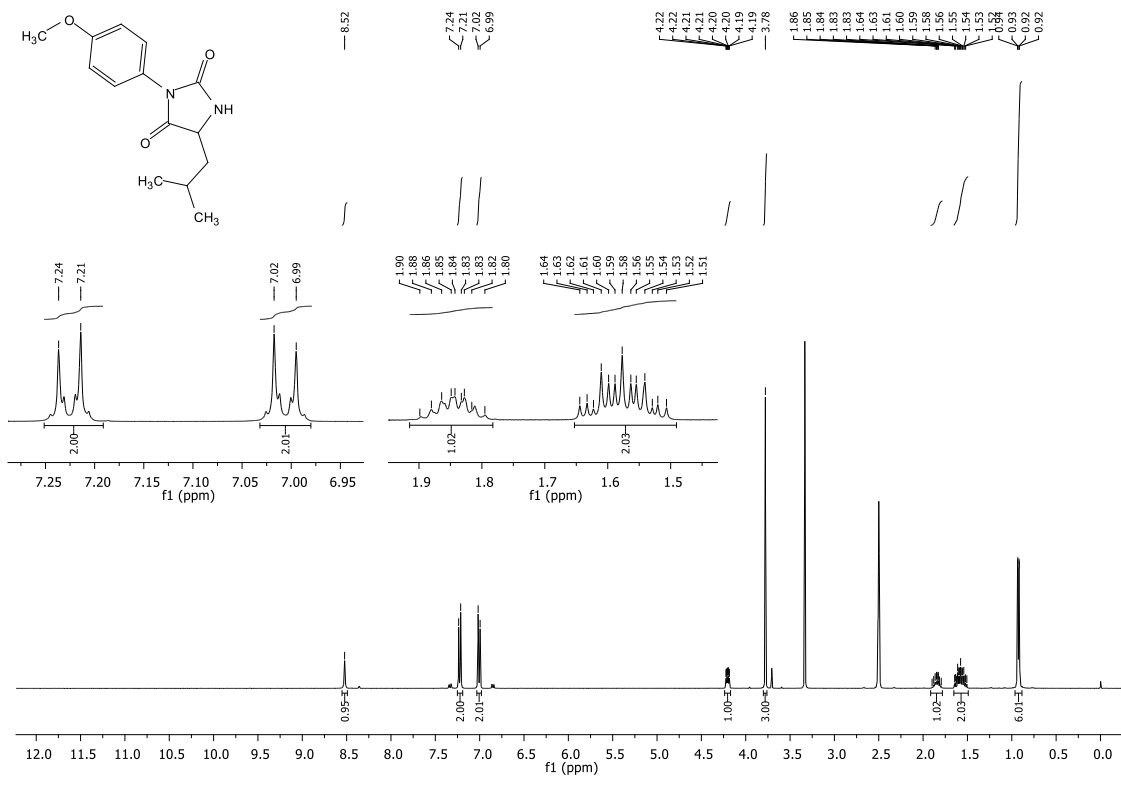
Espectro de RMN ^{13}C do composto **17g** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



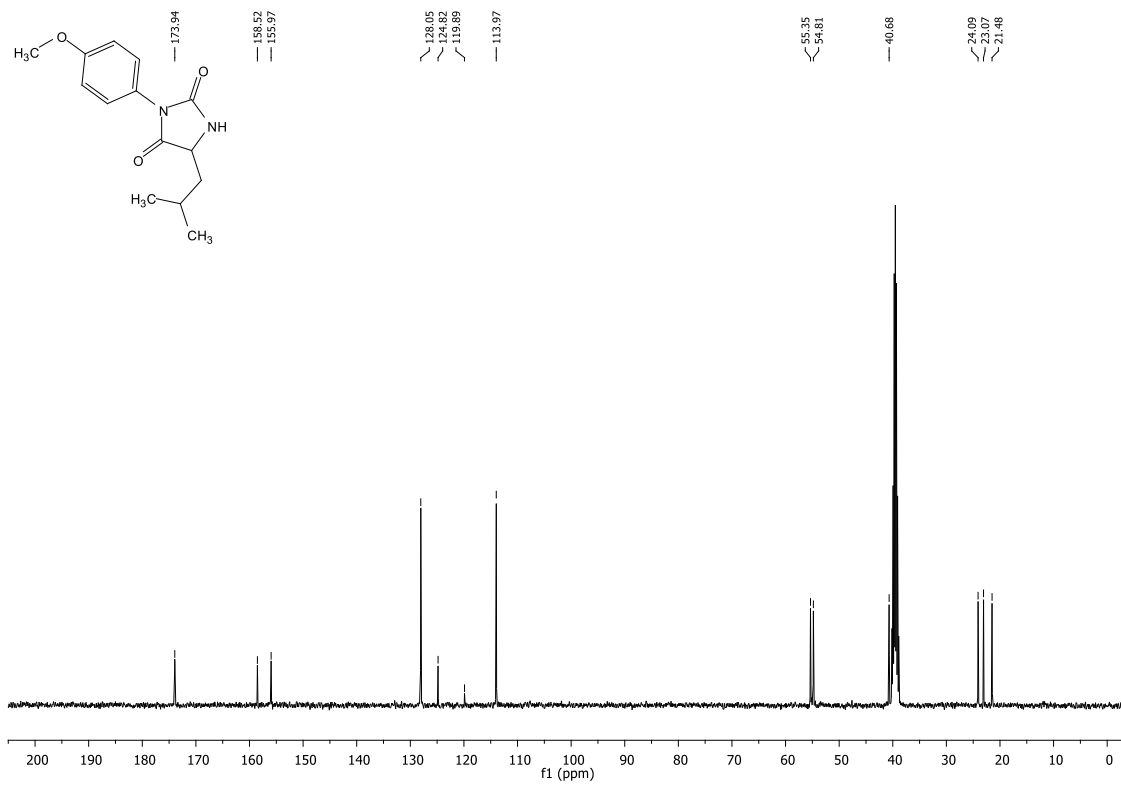
Espectro de RMN ¹H do composto **17h** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



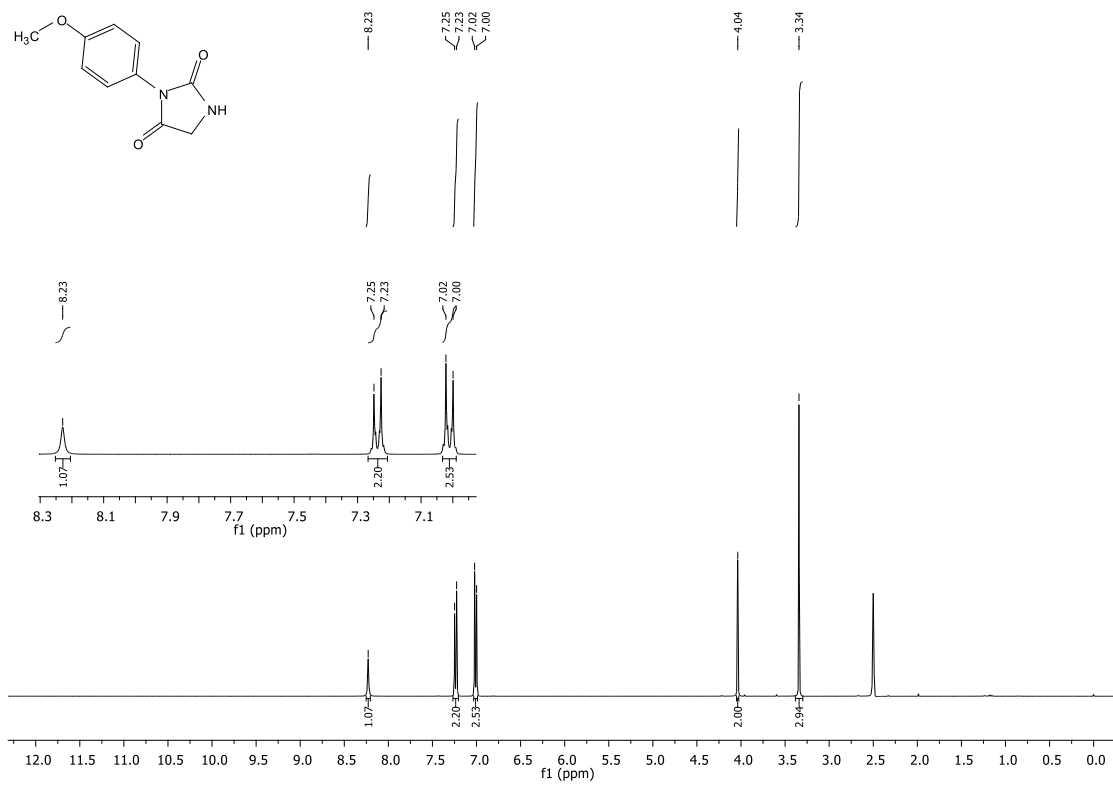
Espectro de RMN ¹³C do composto **17h** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



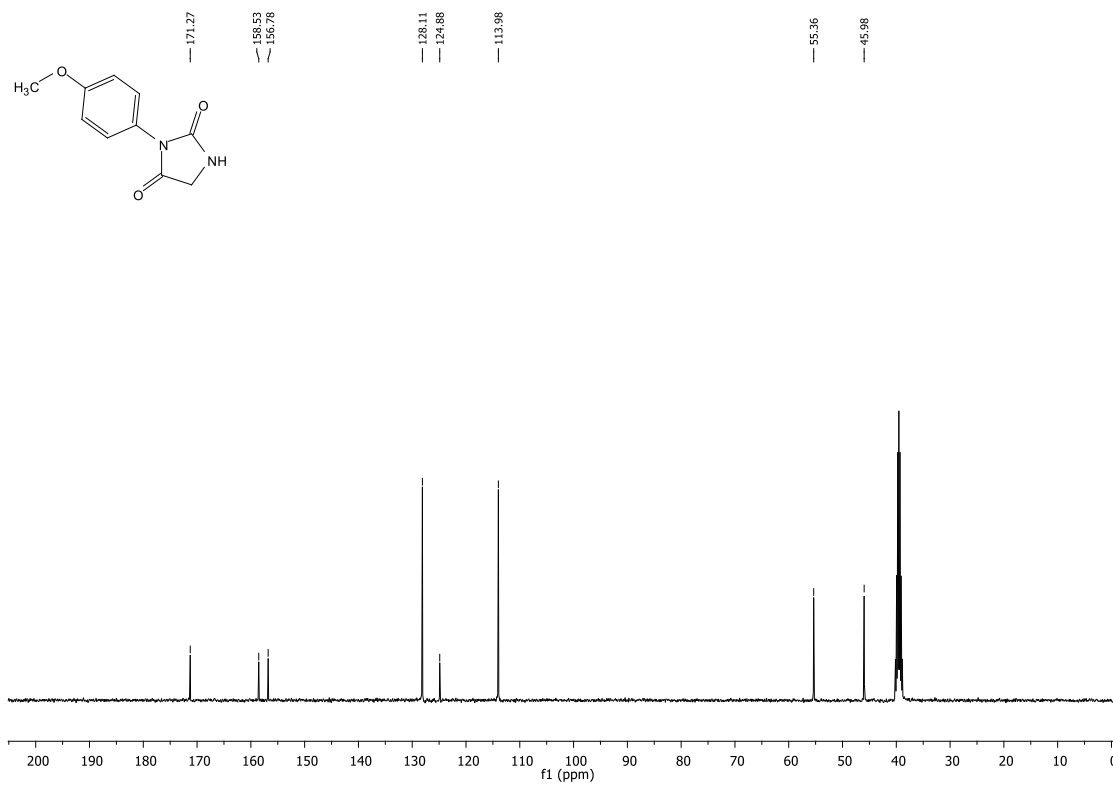
Espectro de RMN ¹H do composto **17i** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



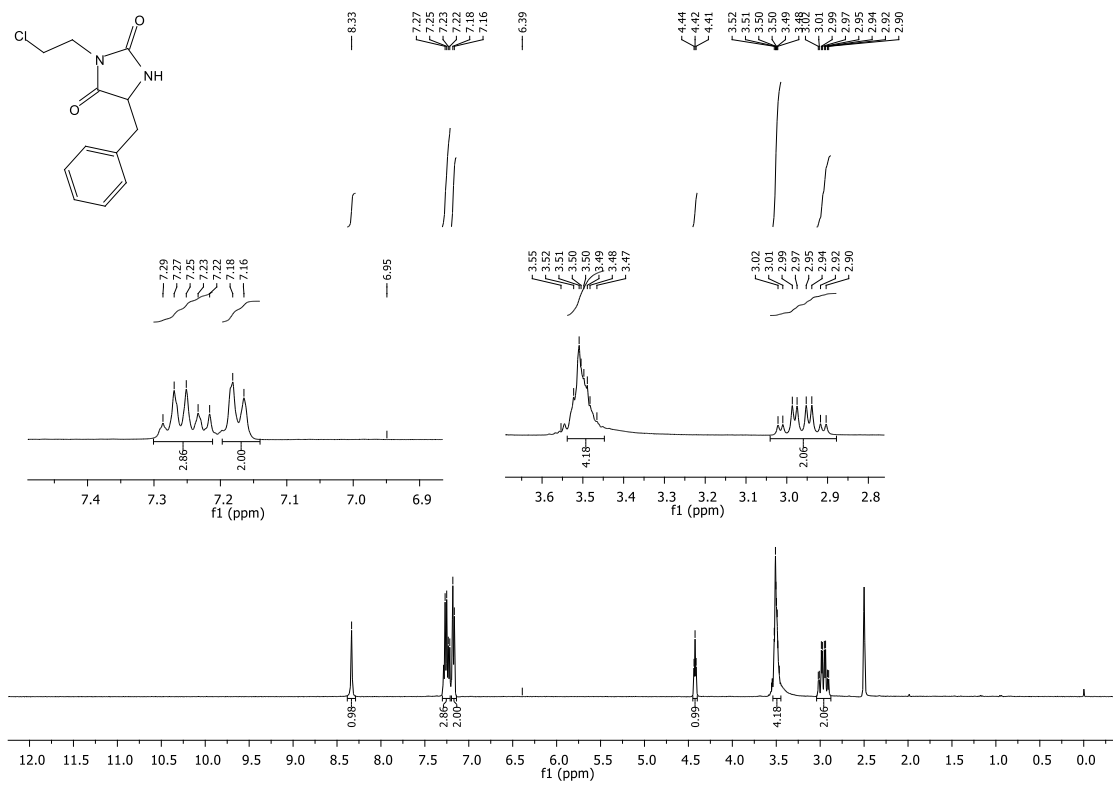
Espectro de RMN ¹³C do composto **17i** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



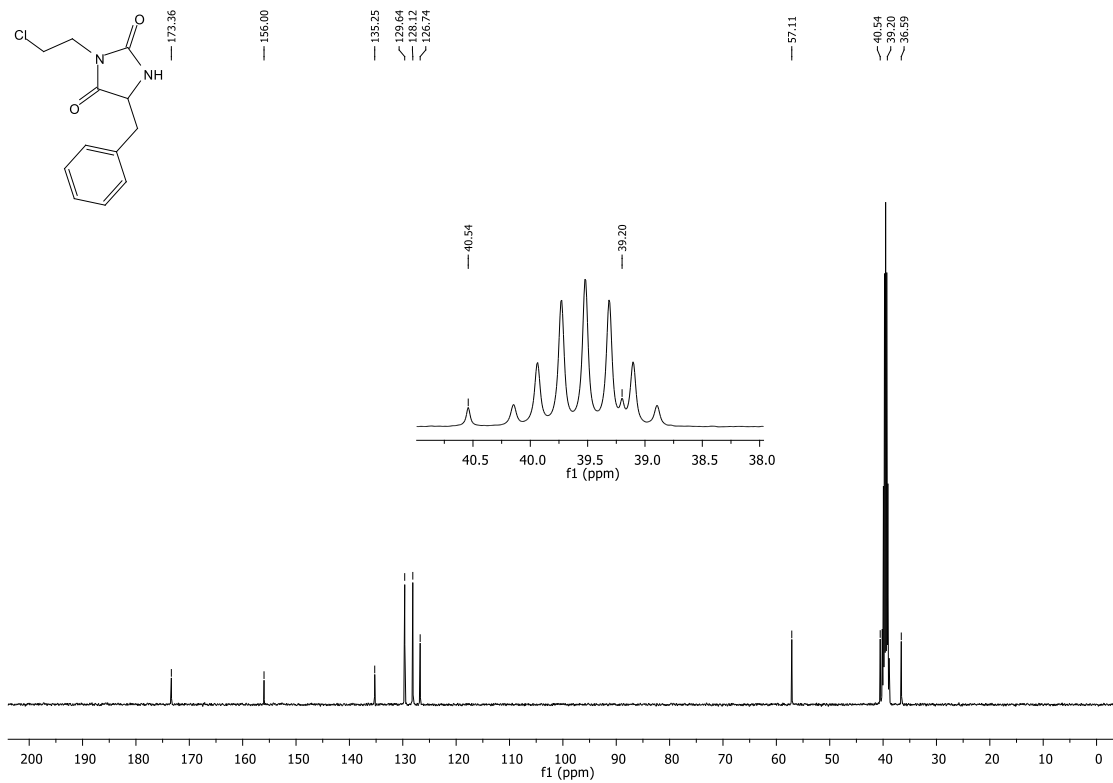
Espectro de RMN ¹H do composto **17j** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



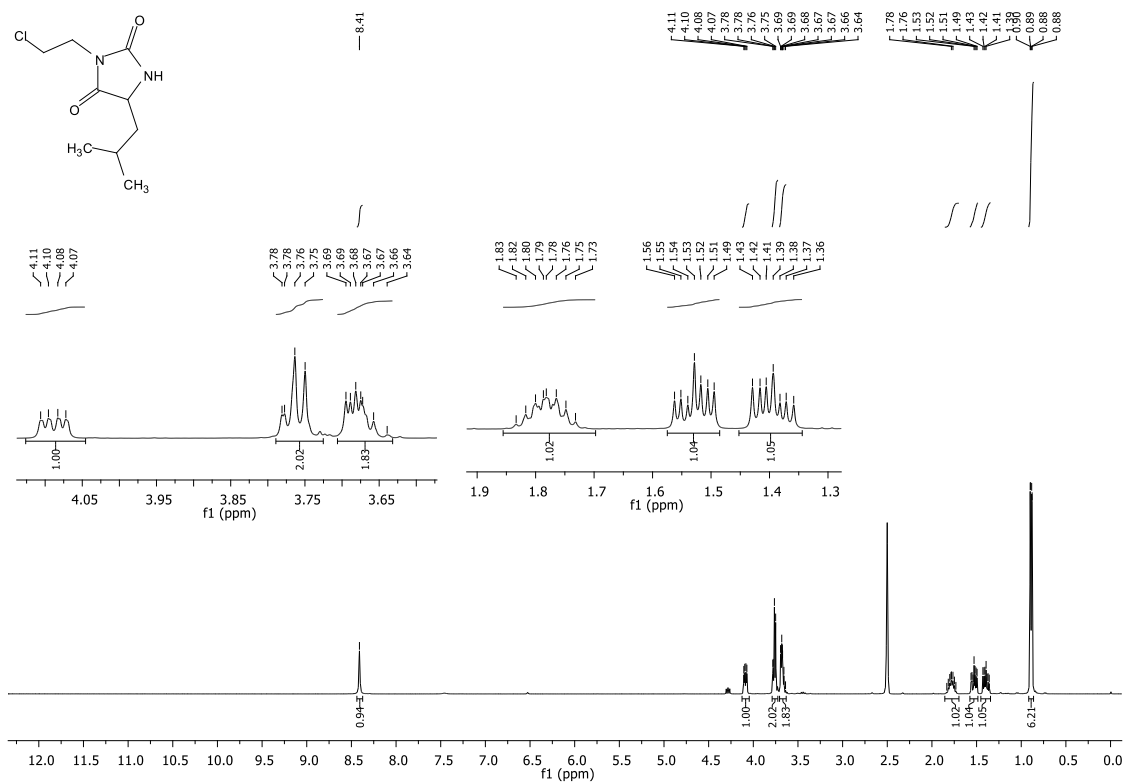
Espectro de RMN ¹³C do composto **17j** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



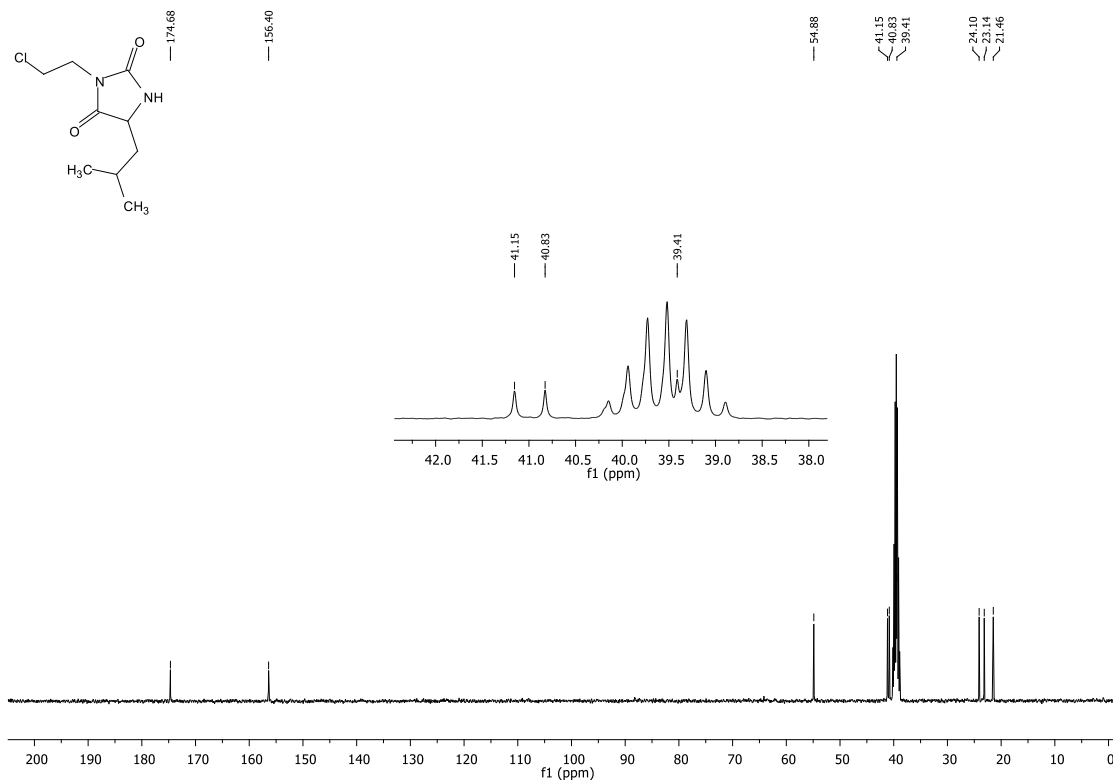
Espectro de RMN ¹H do composto **17k** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



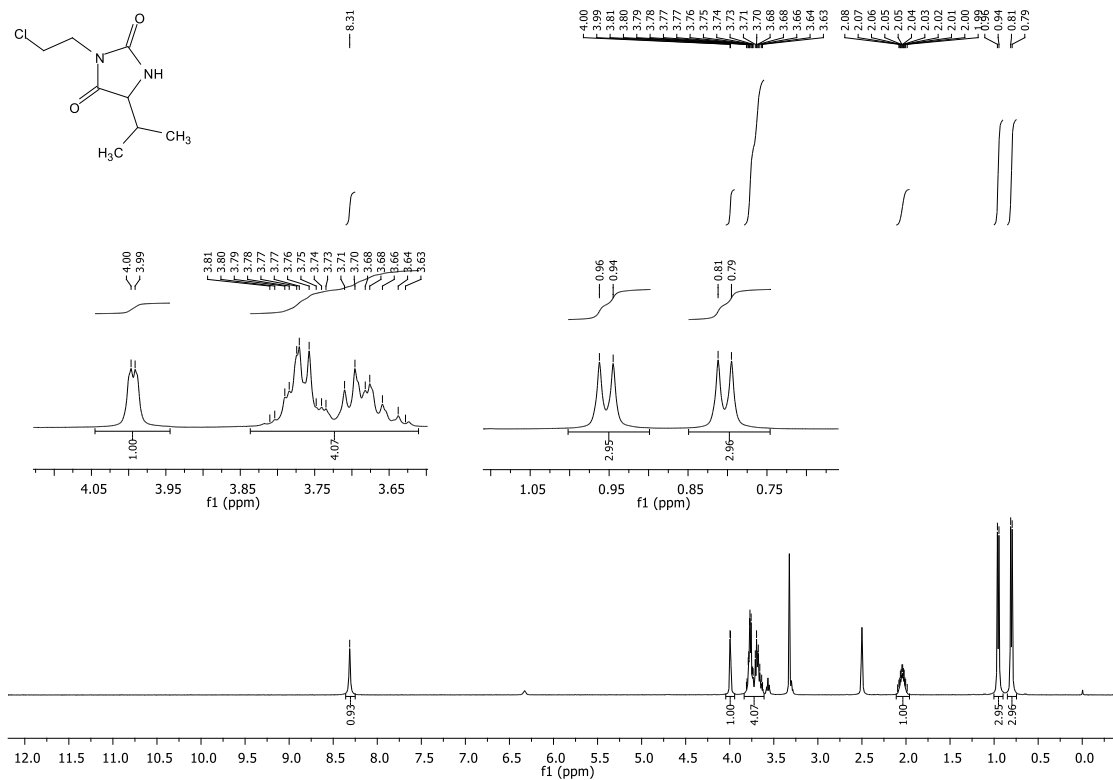
Espectro de RMN ¹³C do composto **17k** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



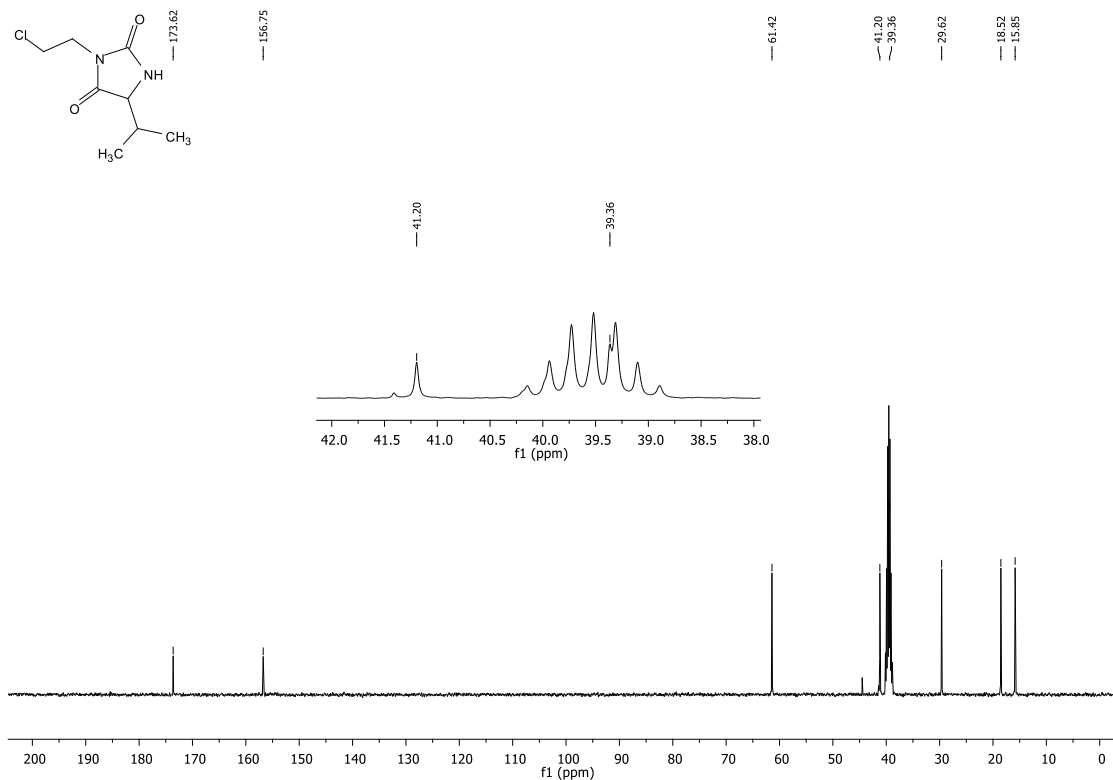
Espectro de RMN ¹H do composto **17I** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



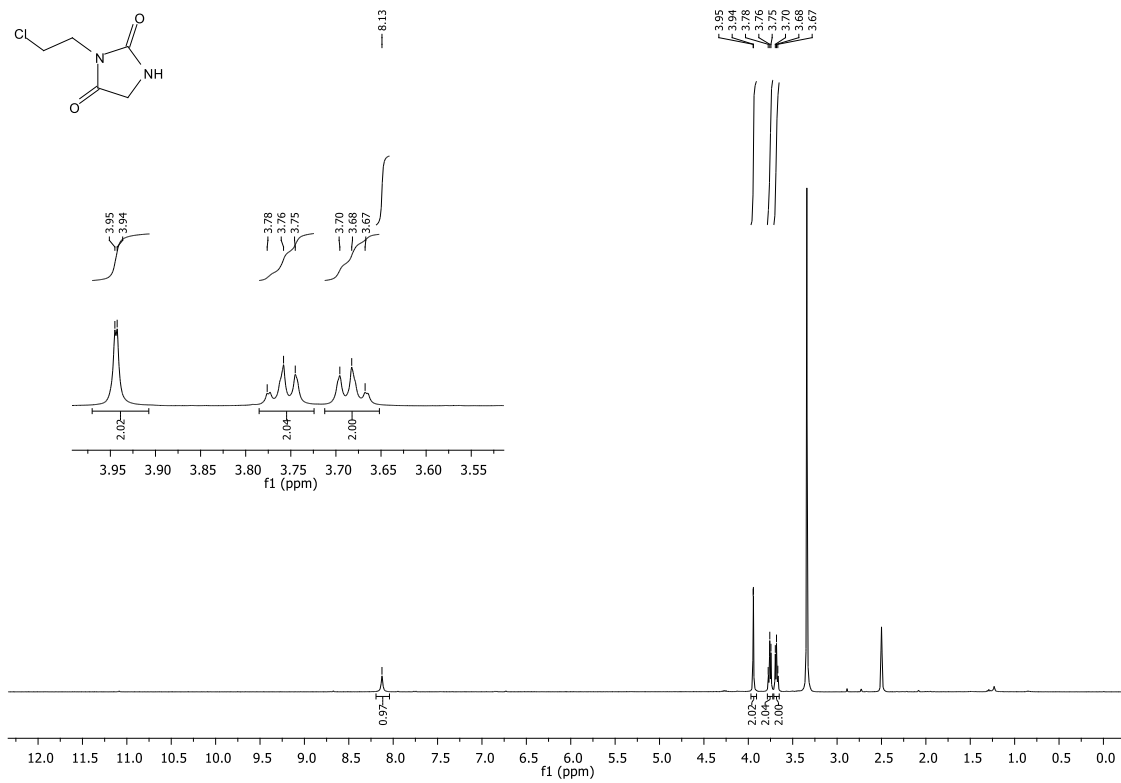
Espectro de RMN ¹³C do composto **17I** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



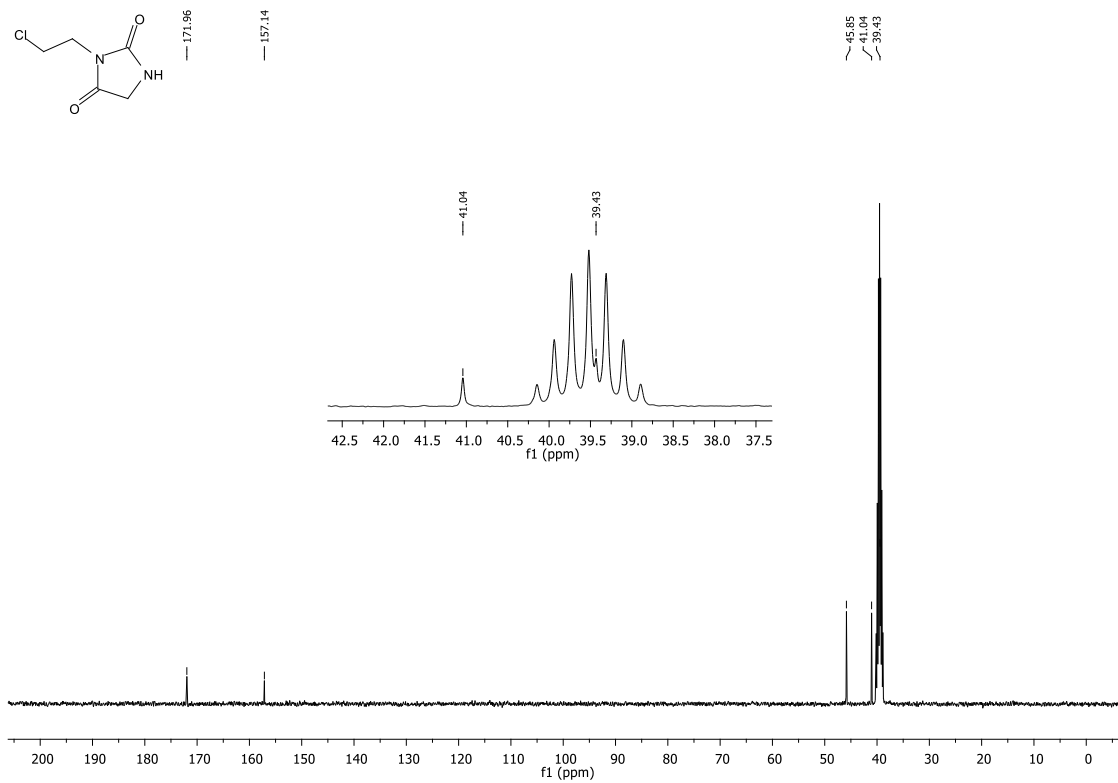
Espectro de RMN ^1H do composto **17m** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



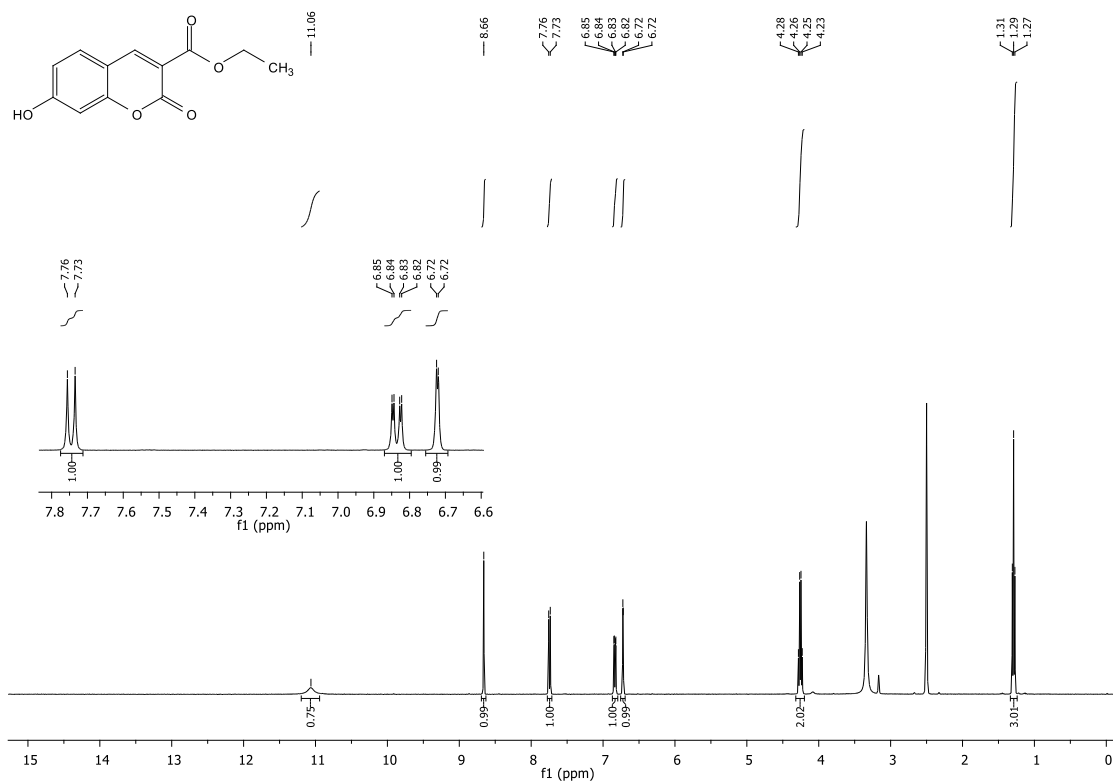
Espectro de RMN ^{13}C do composto **17m** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



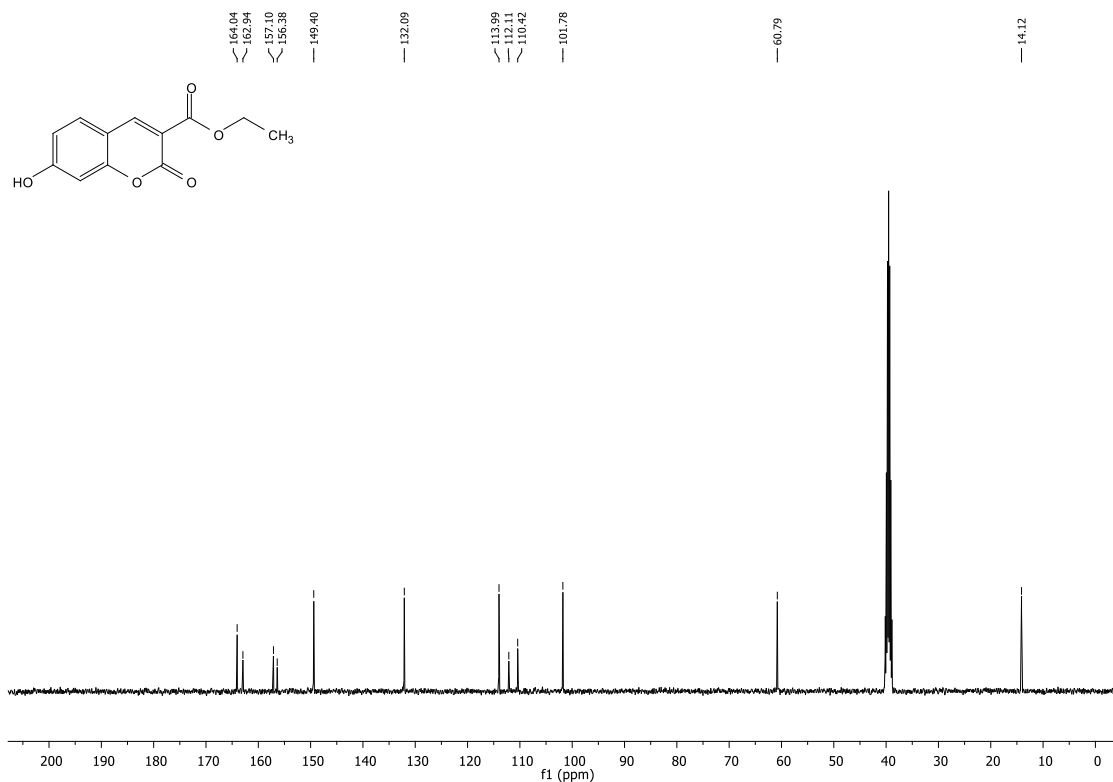
Espectro de RMN ^1H do composto **17n** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



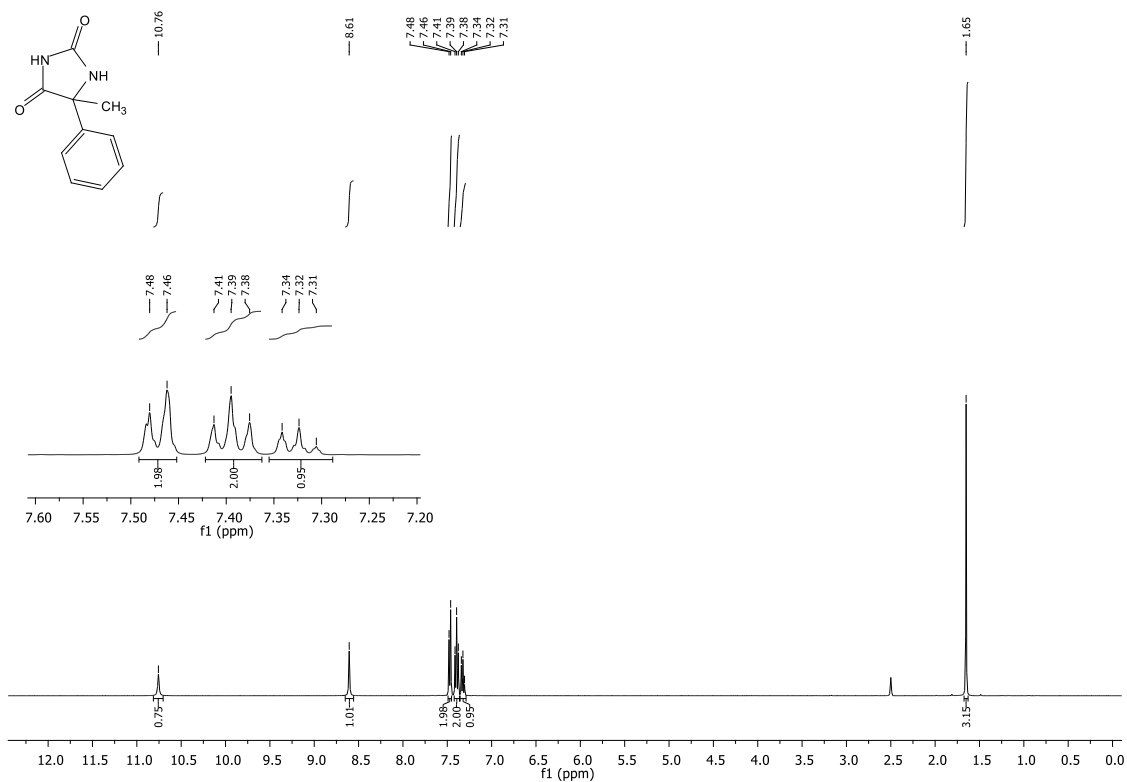
Espectro de RMN ^{13}C do composto **17n** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



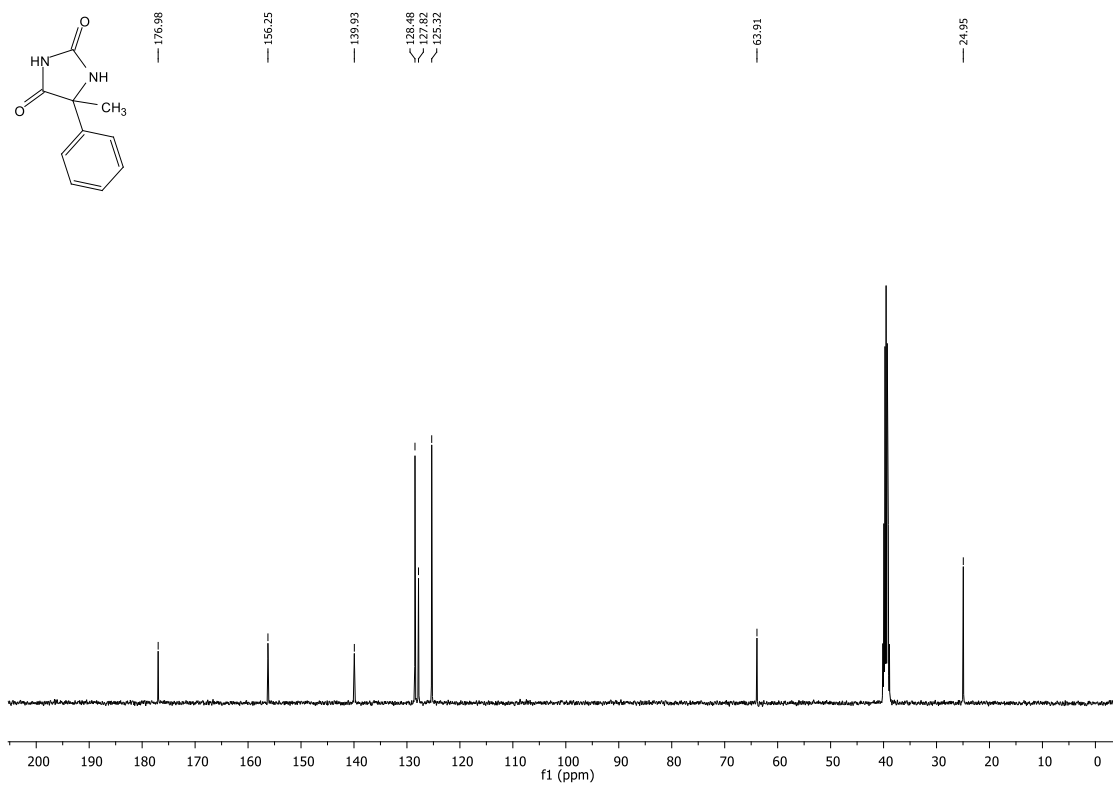
Espectro de RMN ¹H do composto **18** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



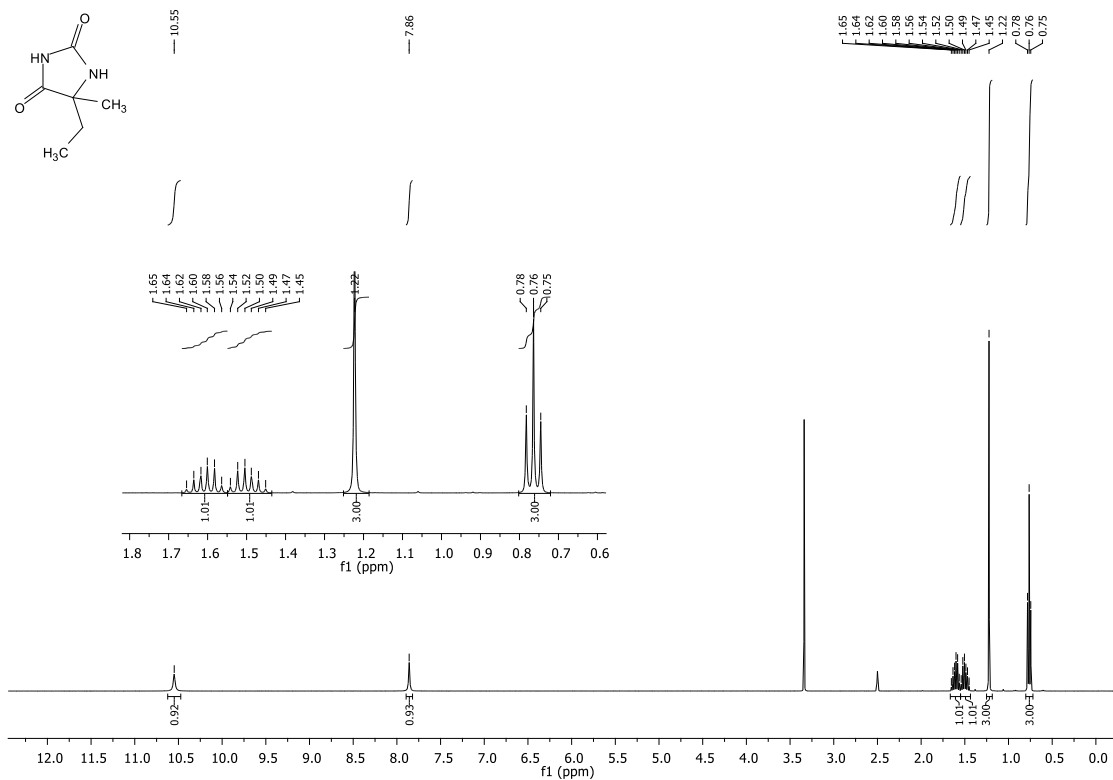
Espectro de RMN ¹³C do composto **18** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



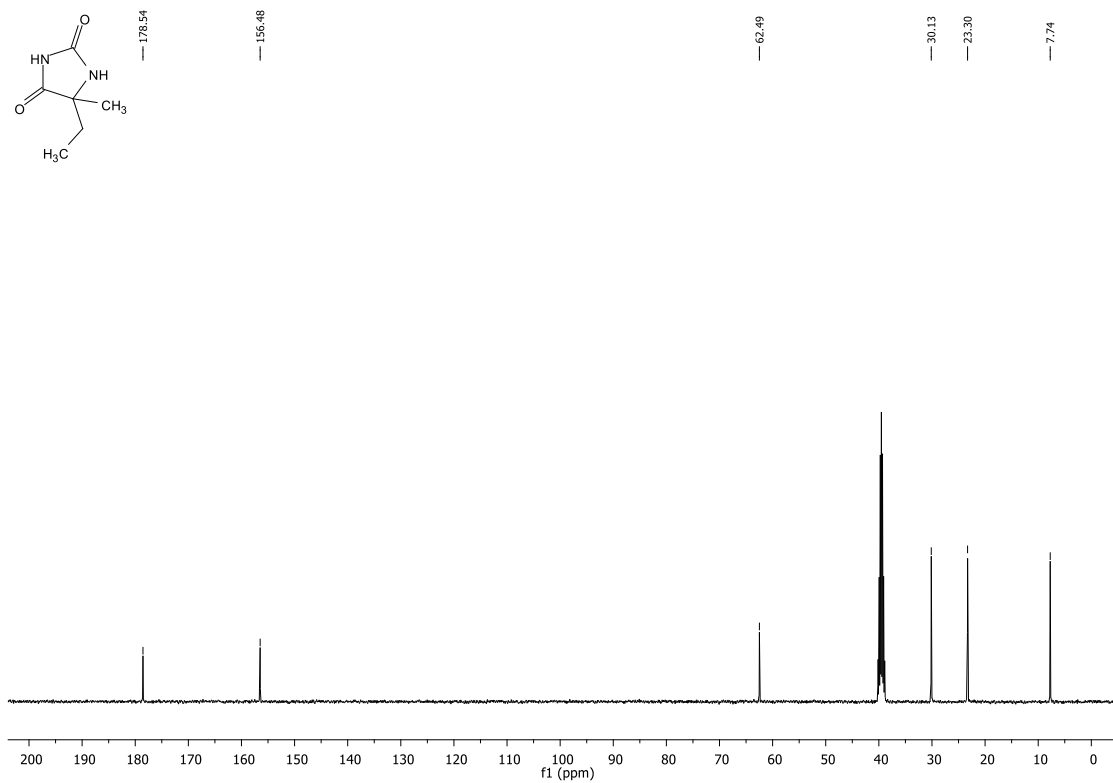
Espectro de RMN ^1H do composto **20a** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



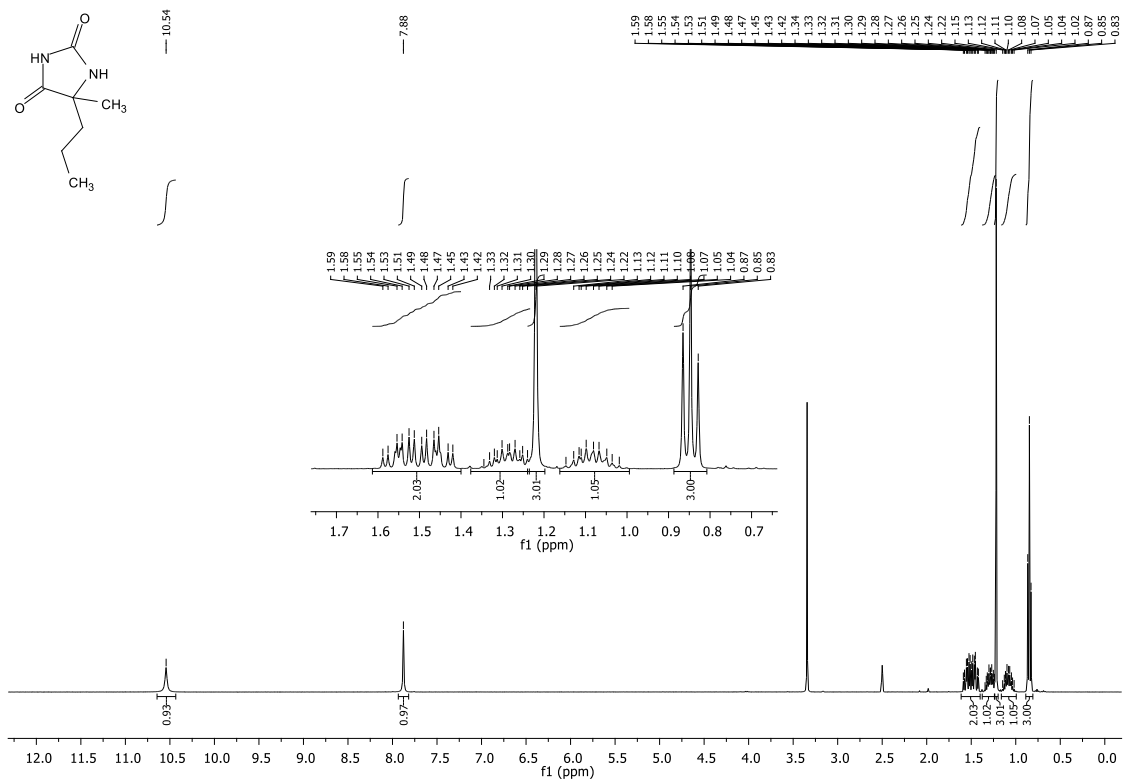
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20a** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



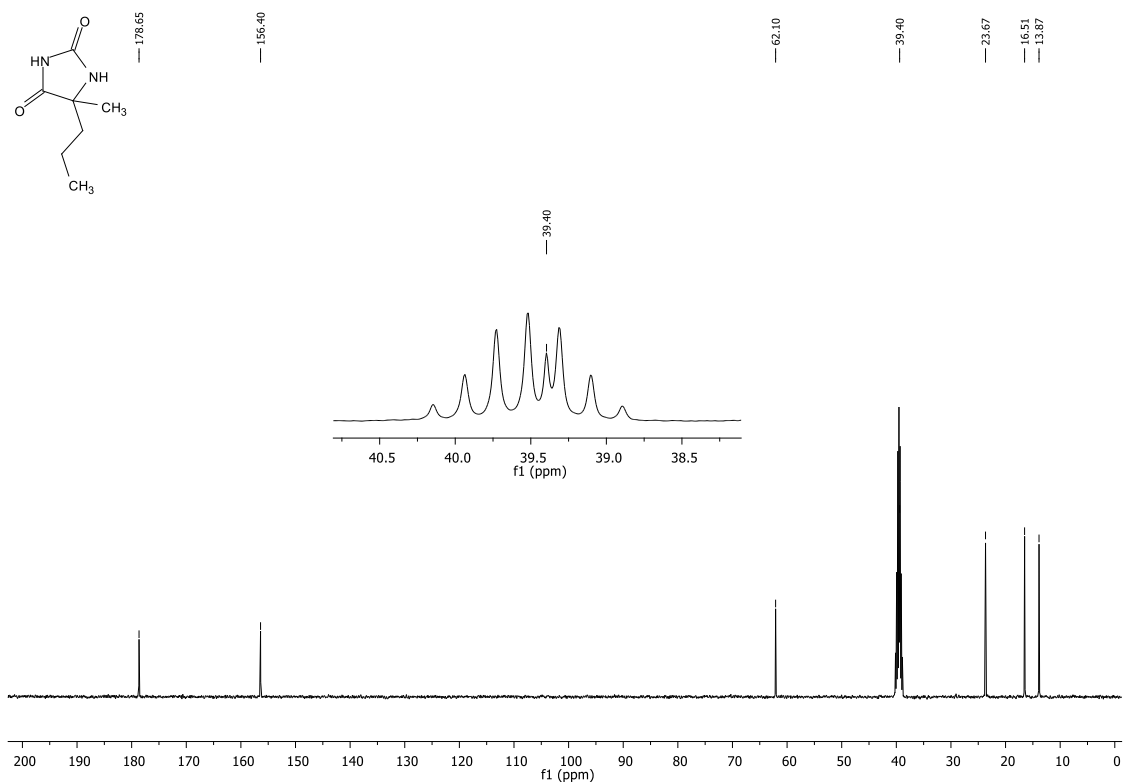
Espectro de RMN ^1H do composto **20b** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



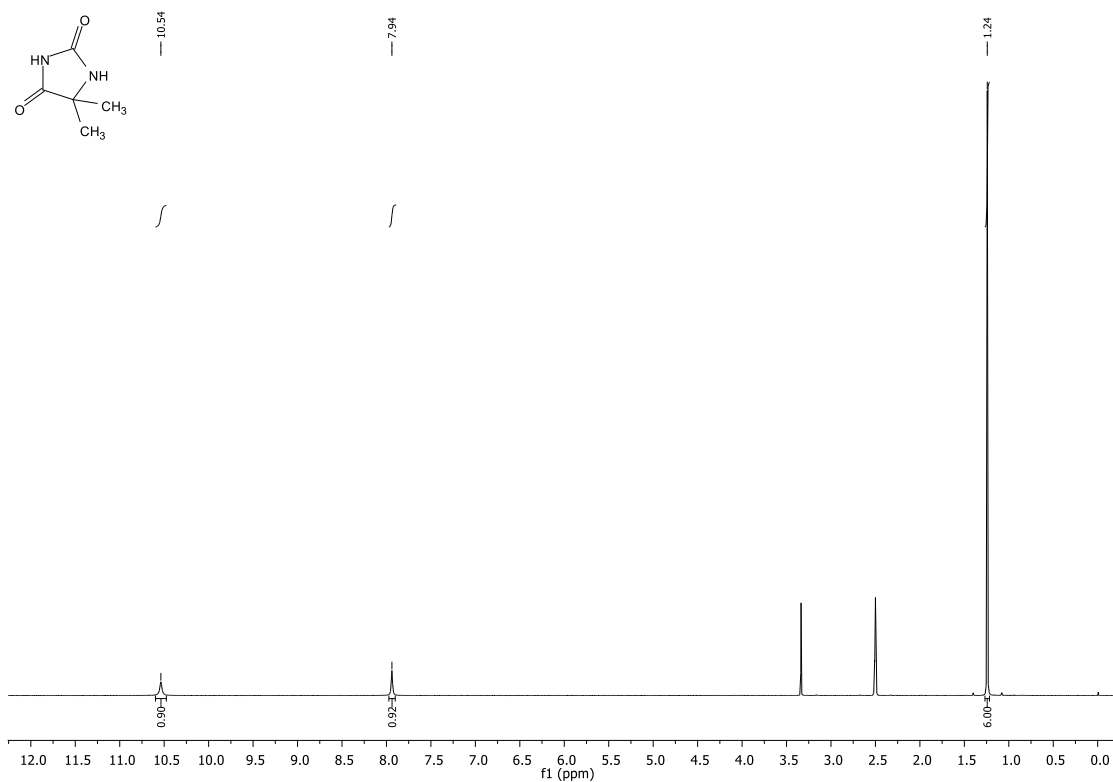
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20b** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



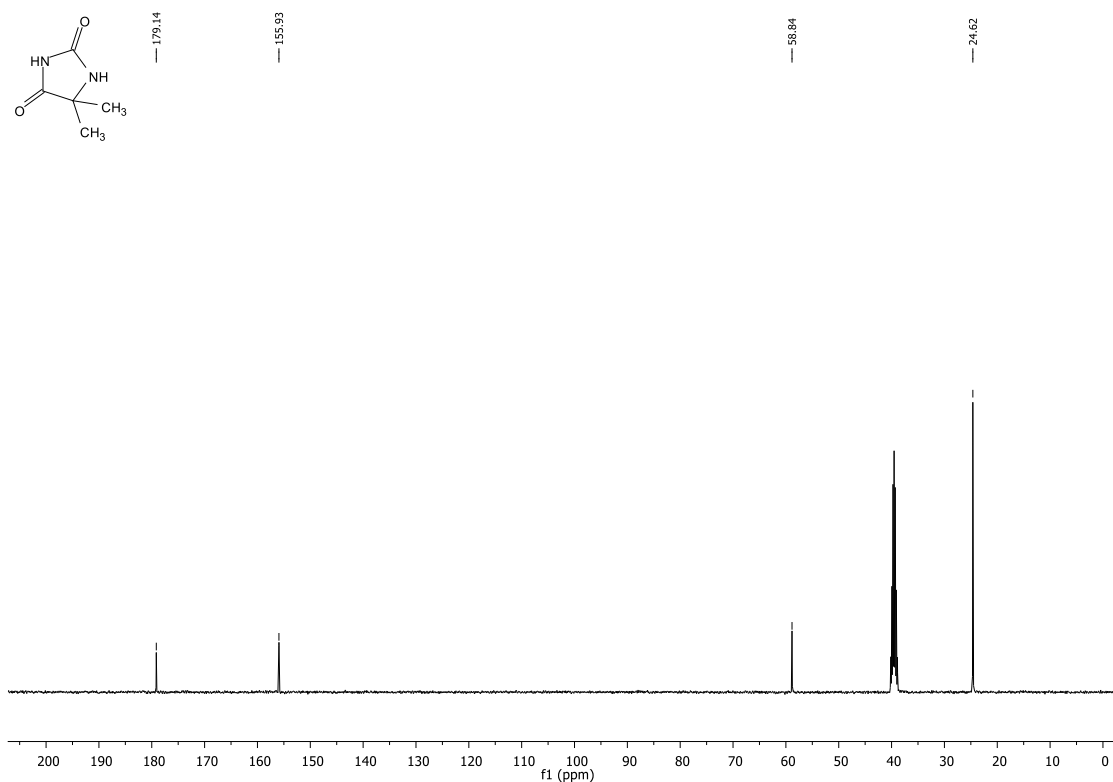
Espectro de RMN ^1H do composto **20c** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



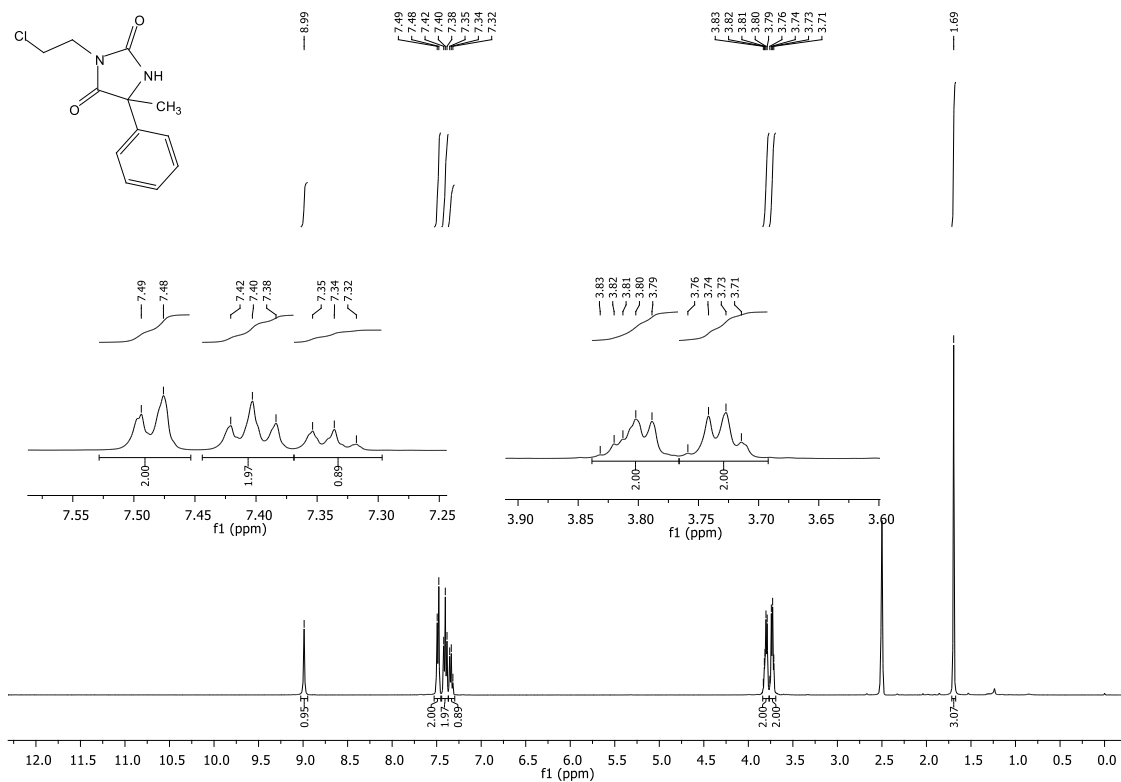
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20c** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



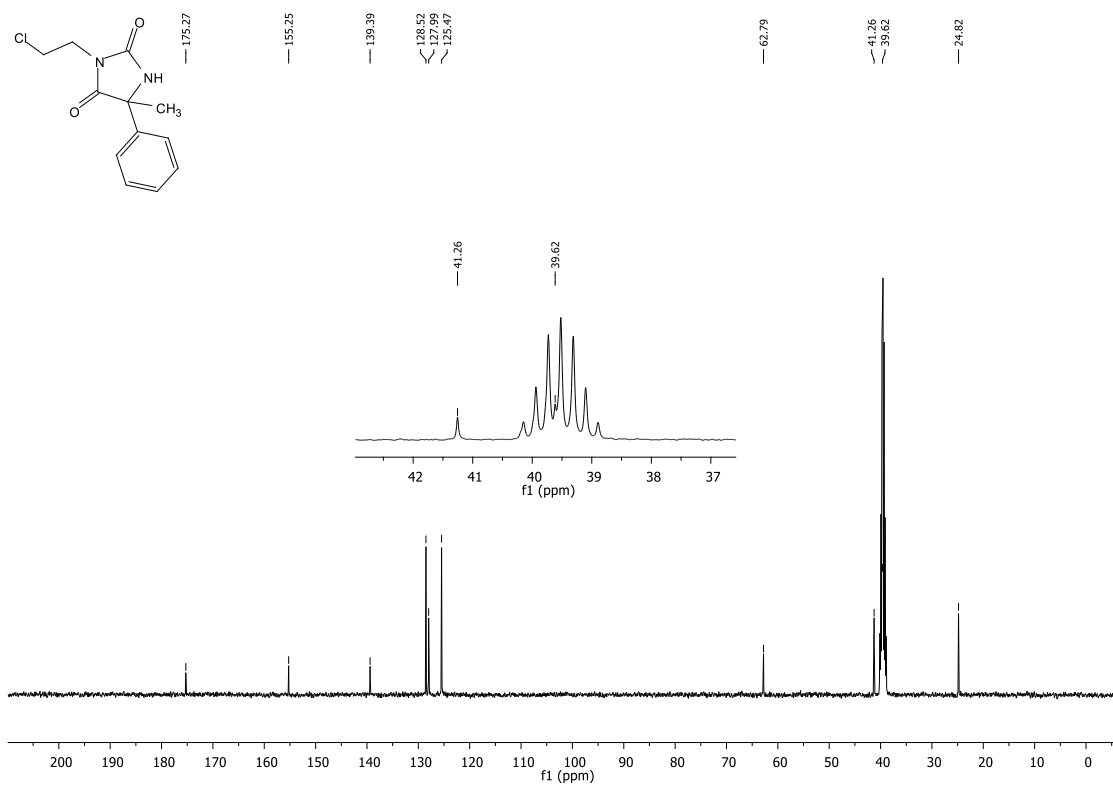
Espectro de RMN ^1H do composto **20d** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



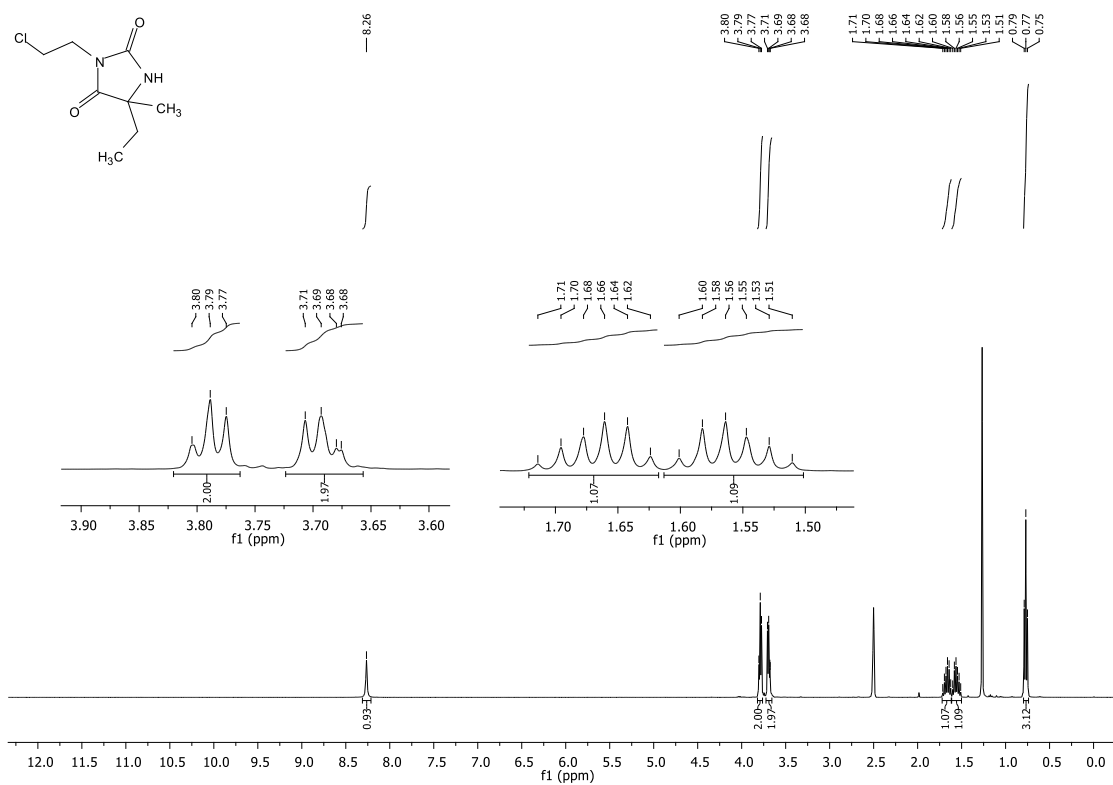
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20d** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



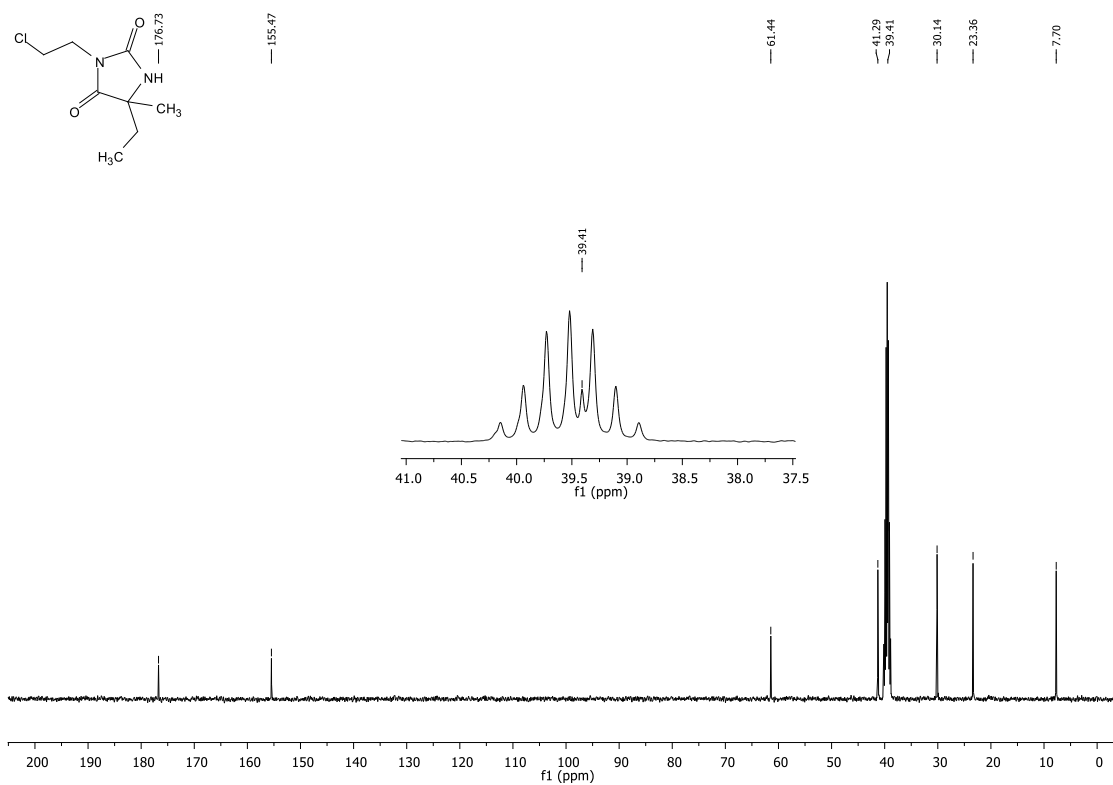
Espectro de RMN ¹H do composto **21a** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



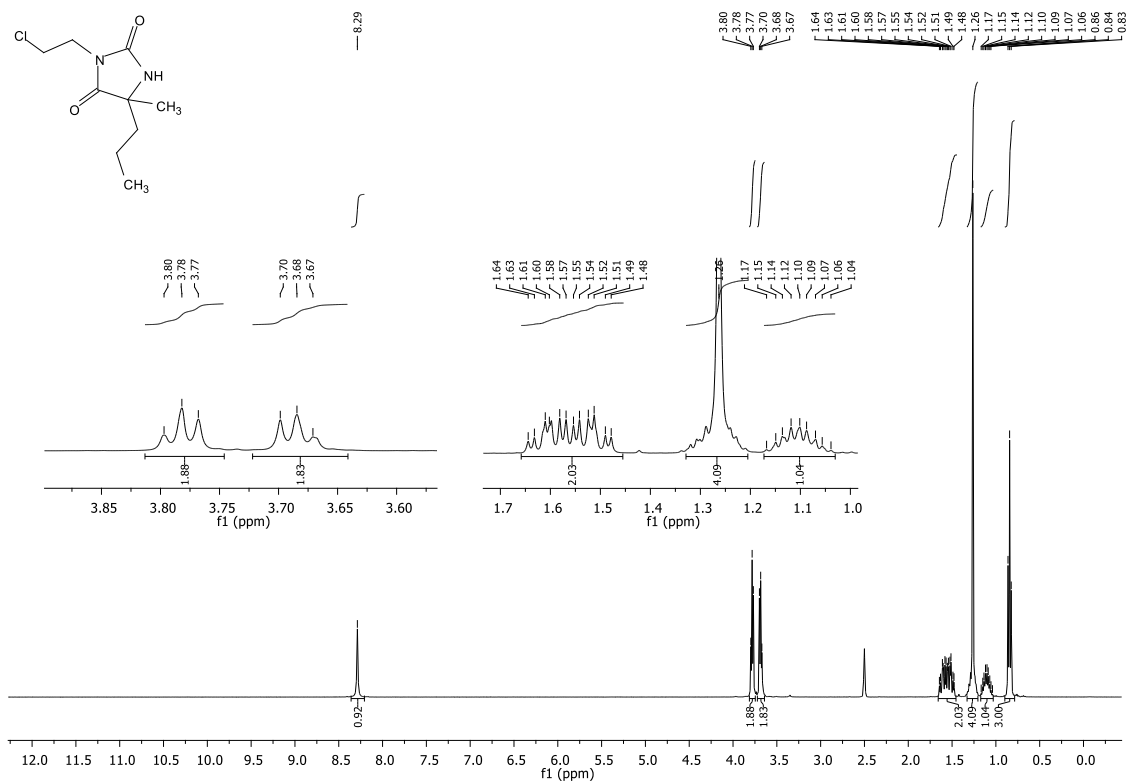
Espectro de RMN ¹³C do composto **21a** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



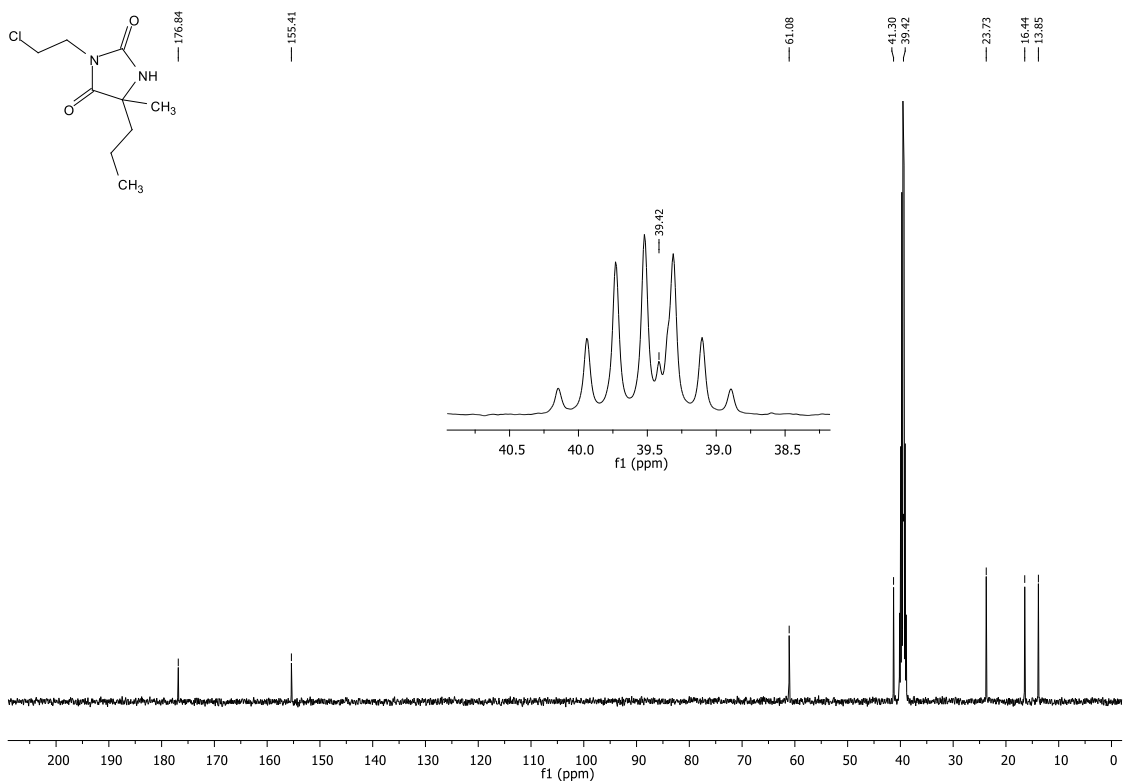
Espectro de RMN ^1H do composto **21b** em DMSO- d_6 a 400 MHz.



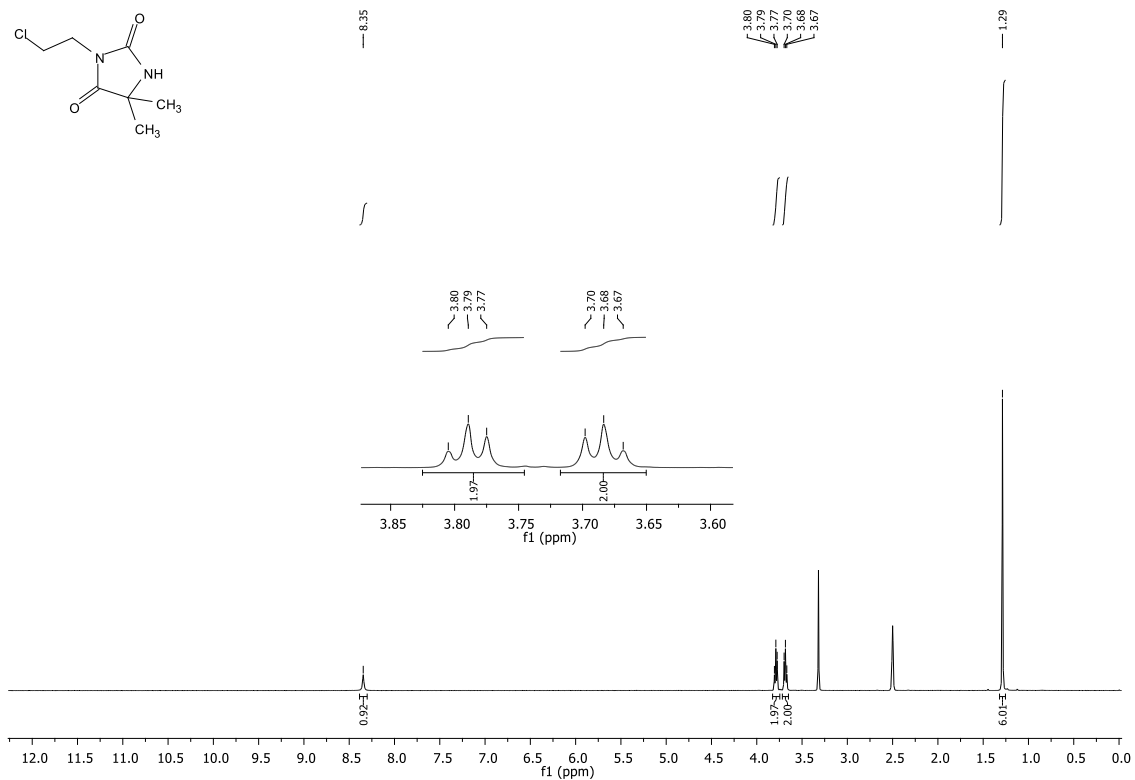
Espectro de RMN ^{13}C do composto **21b** em DMSO- d_6 a 100 MHz.



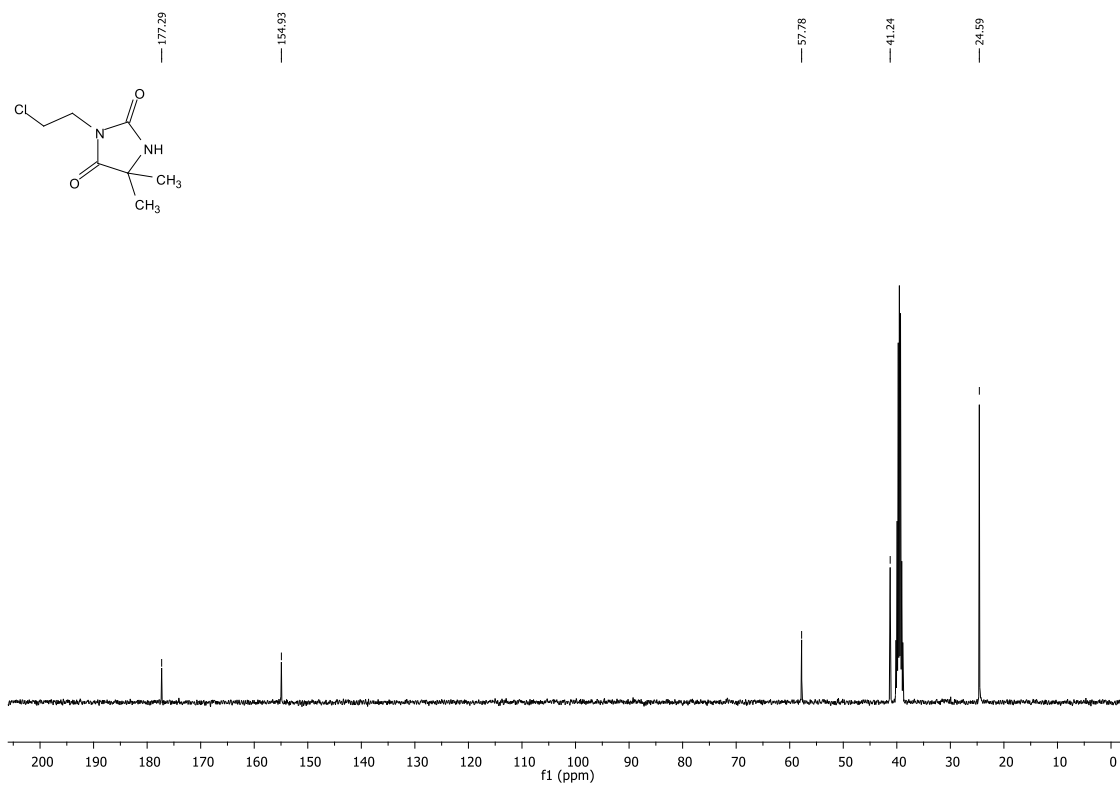
Espectro de RMN ¹H do composto **21c** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



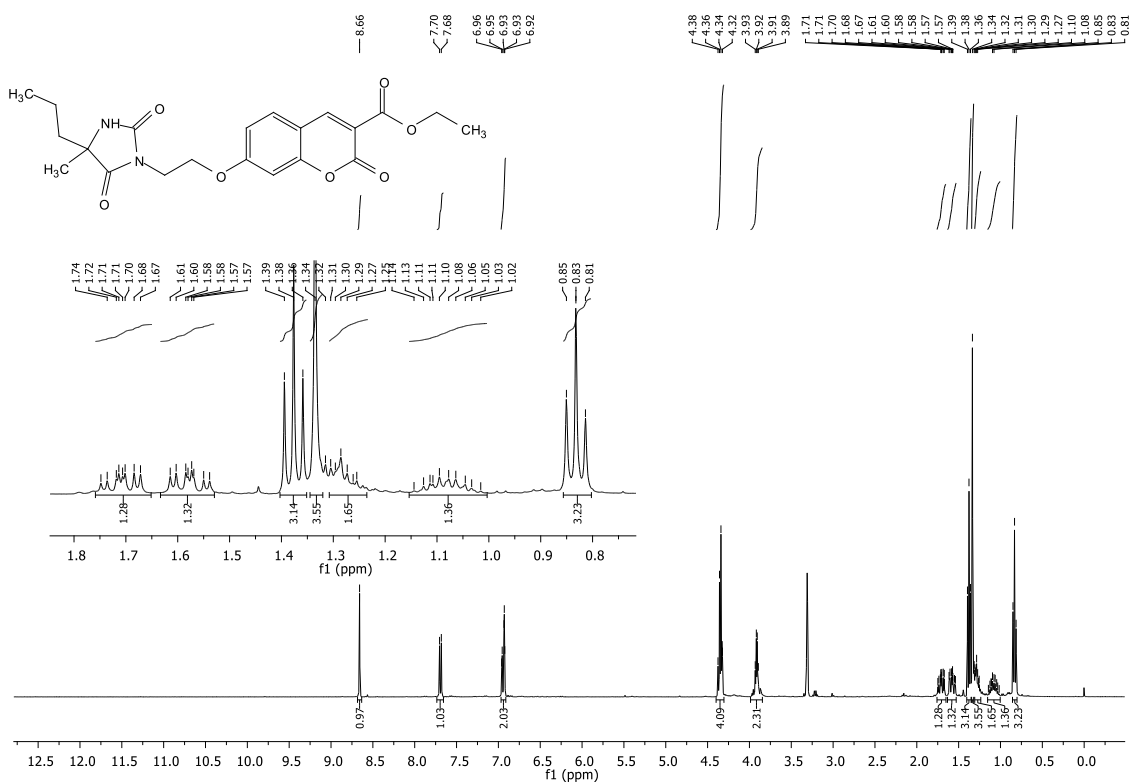
Espectro de RMN ¹³C do composto **21c** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



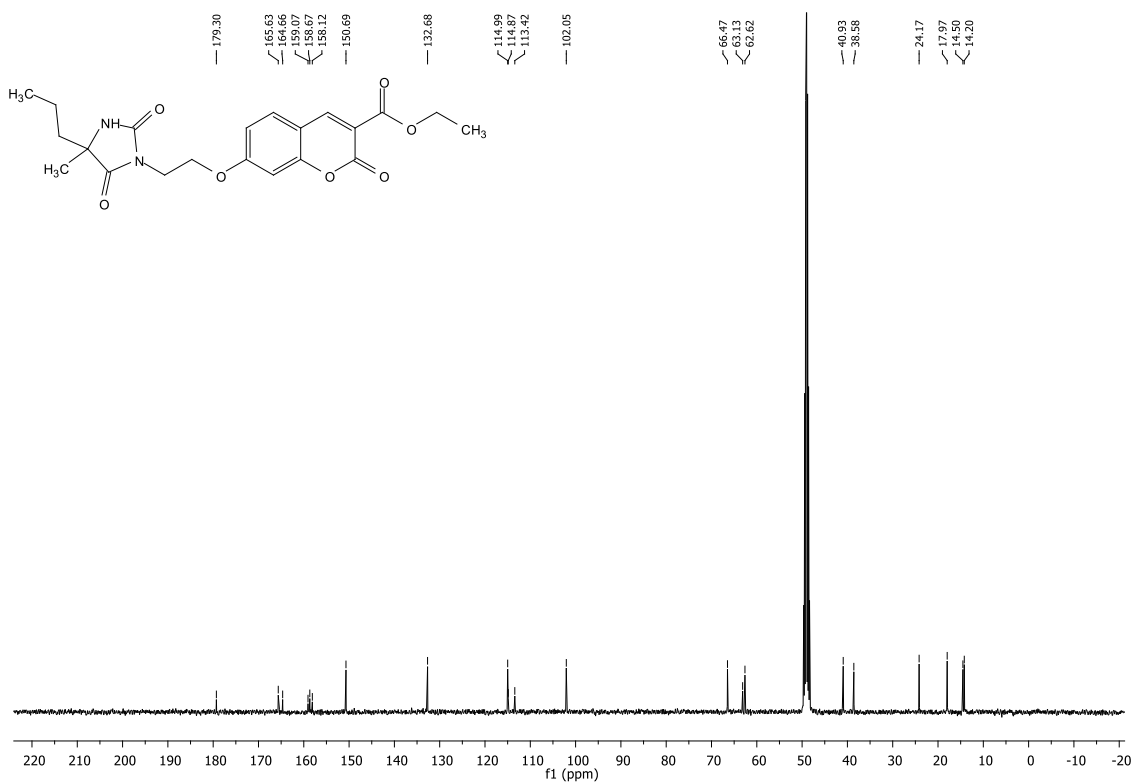
Espectro de RMN ¹H do composto **21d** em DMSO-d₆ a 400 MHz.



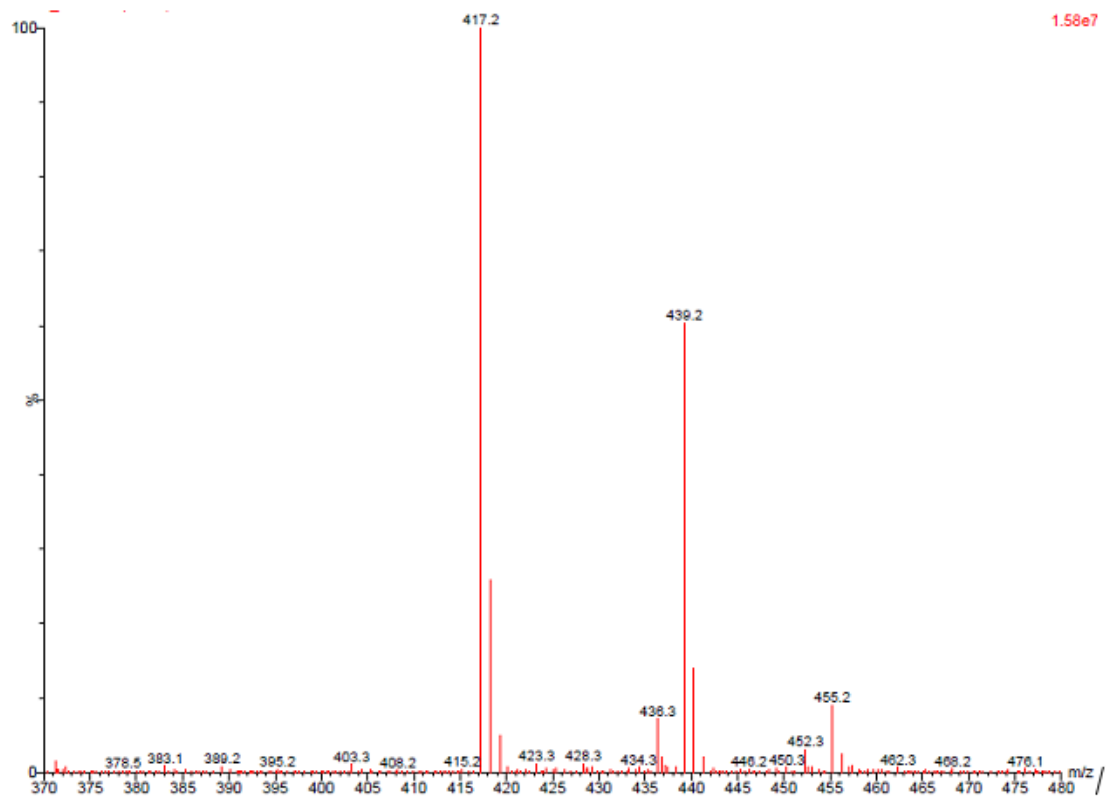
Espectro de RMN ¹³C do composto **21d** em DMSO-d₆ a 100 MHz.



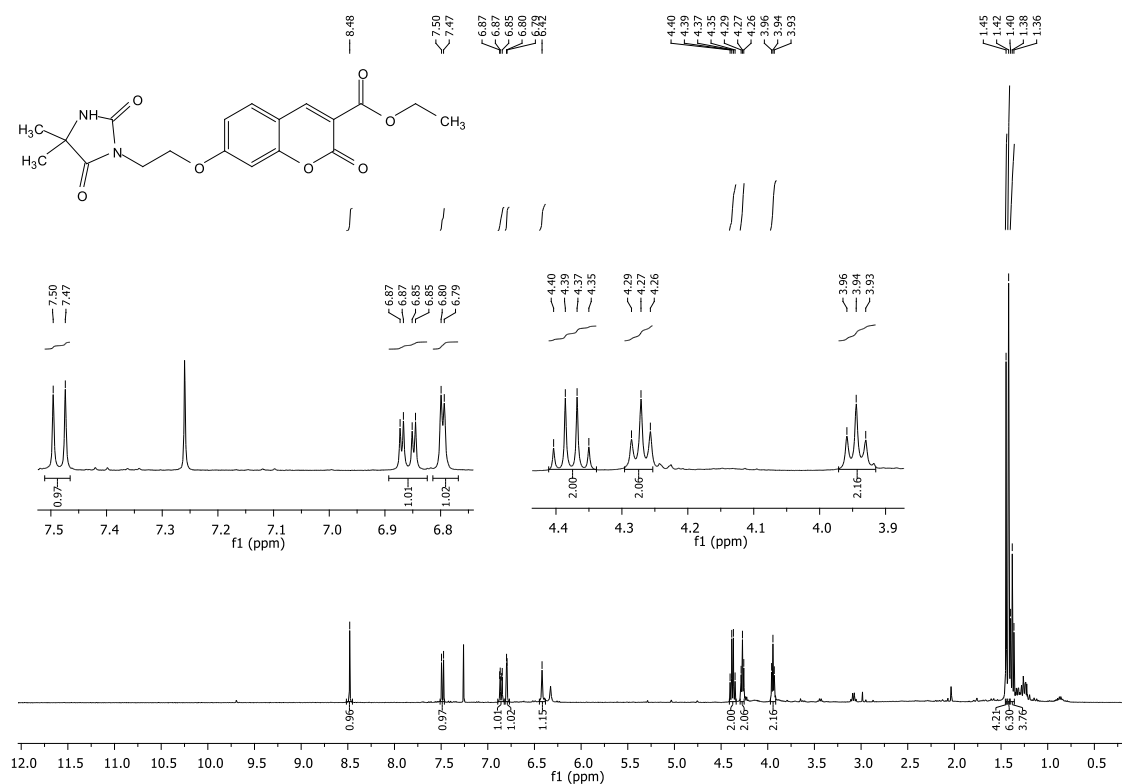
Espectro de RMN ^1H do composto **22a** em CDCl_3 a 400 MHz.



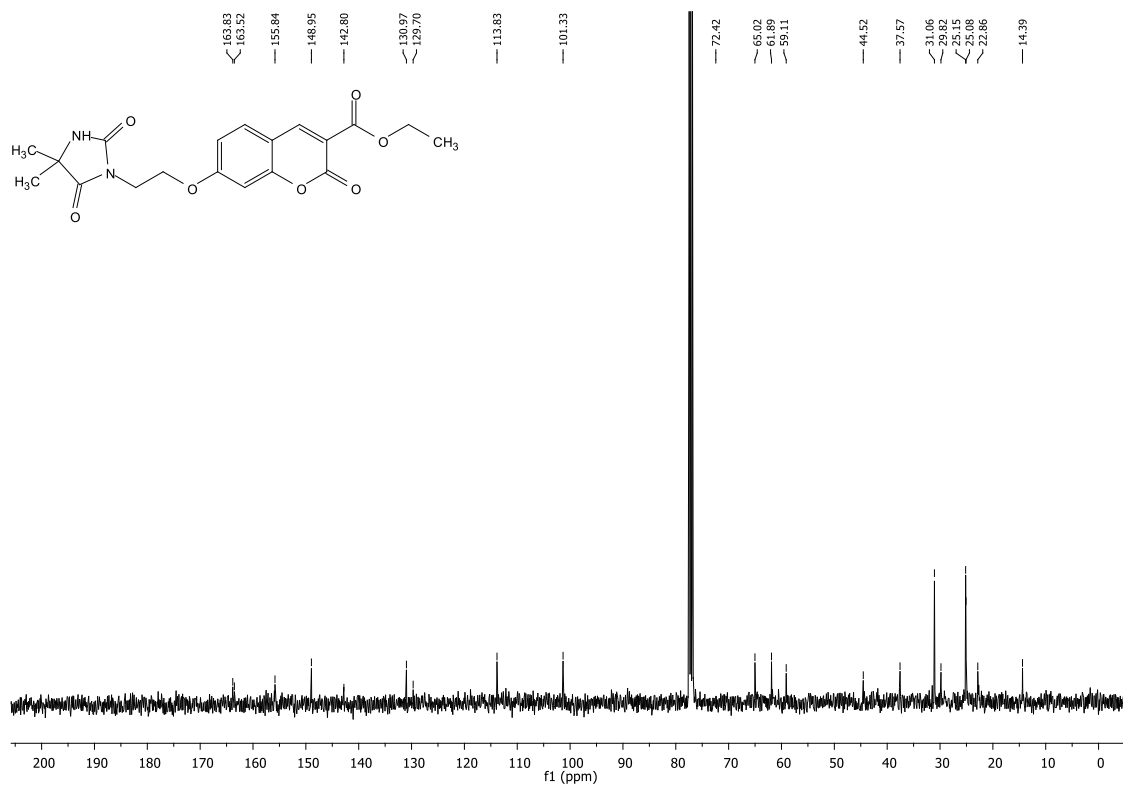
Espectro de RMN ^{13}C do composto **22a** em CDCl_3 a 100 MHz.



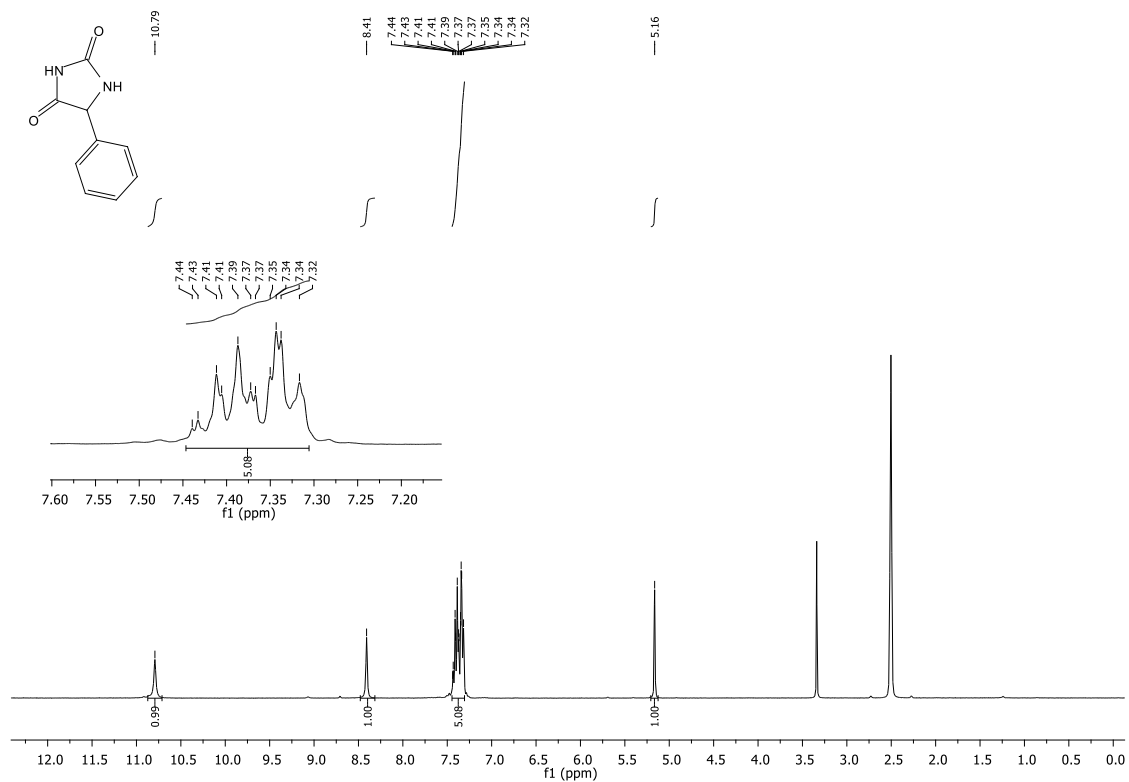
Espectro LC-MS do composto **22a**.



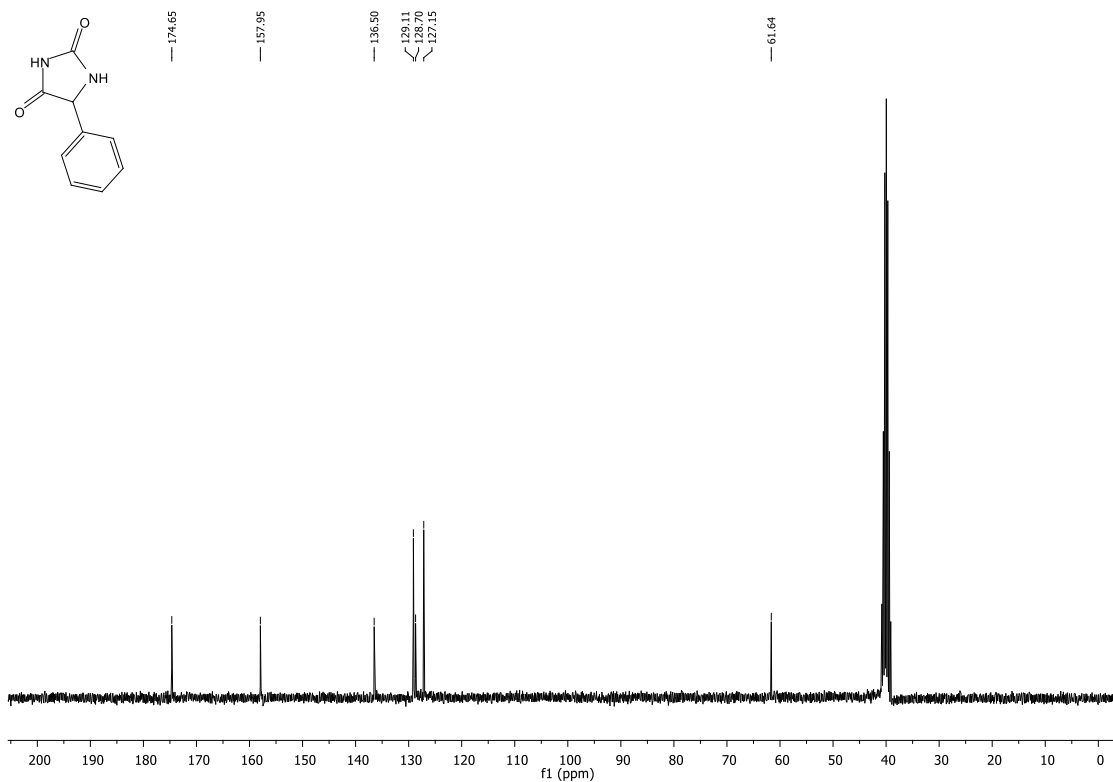
Espectro de RMN ^1H do composto **22b** em CDCl_3 a 400 MHz.



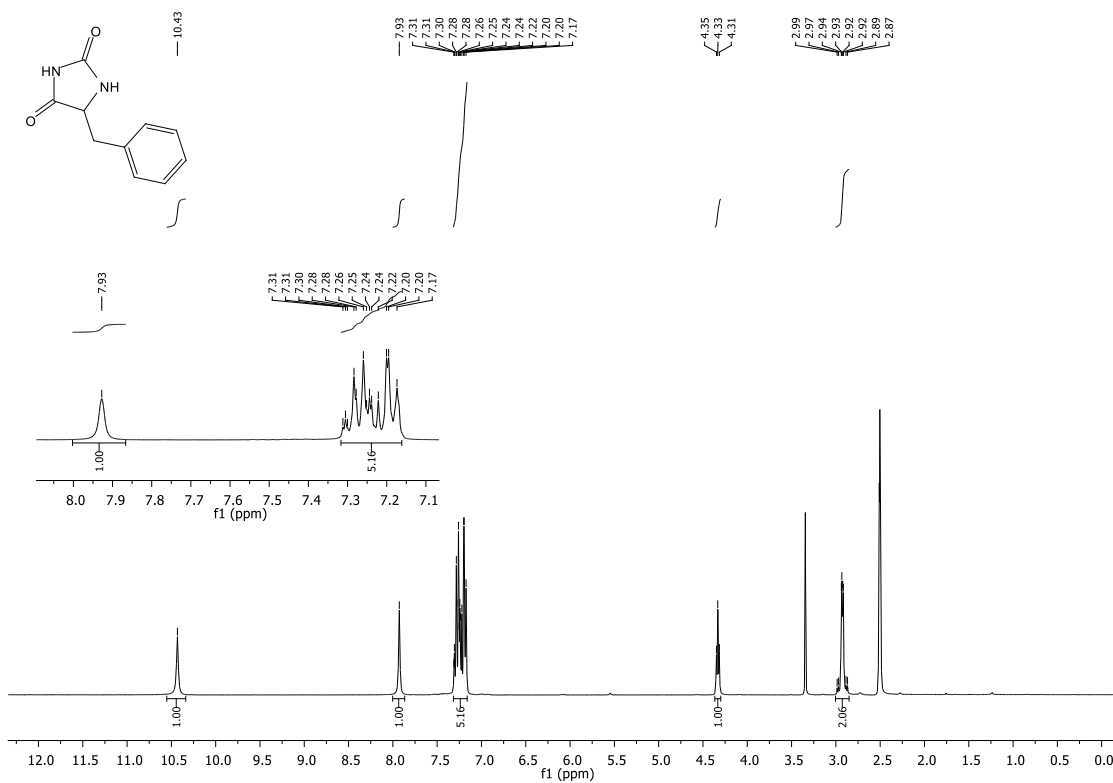
Espectro de RMN ^{13}C do composto **22b** em CDCl_3 a 100 MHz.



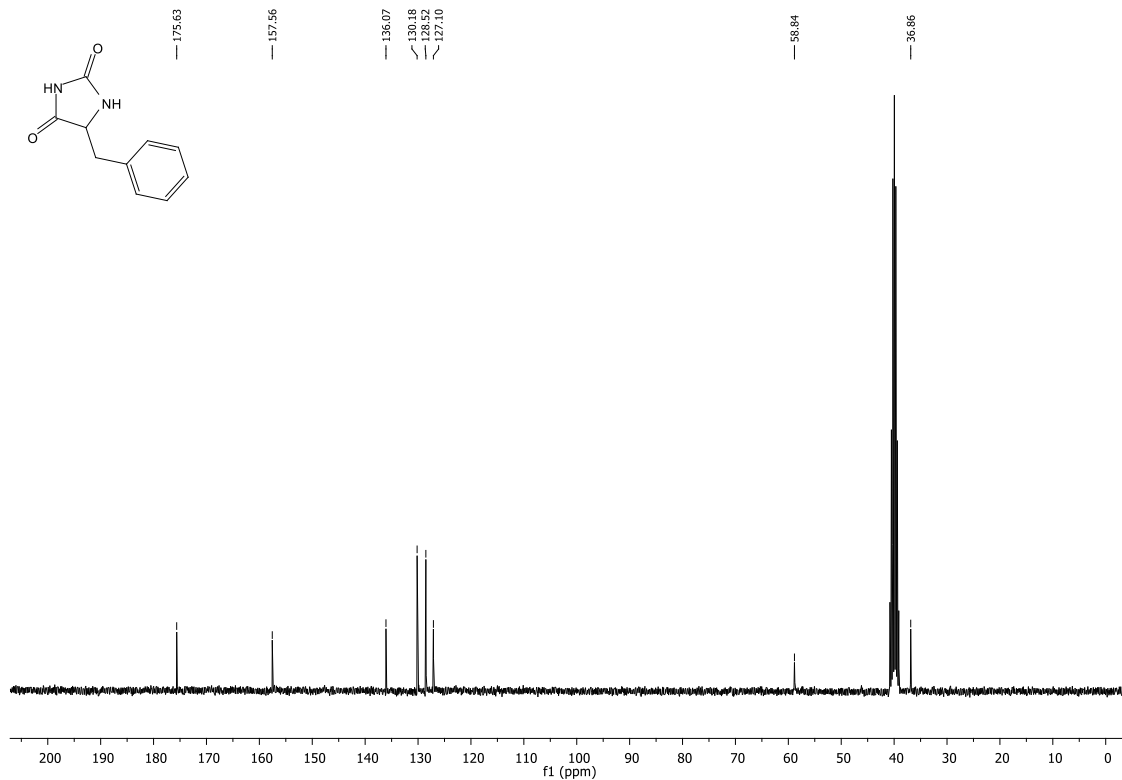
Espectro de RMN ^1H do composto **20e** em DMSO-d_6 a 300 MHz.



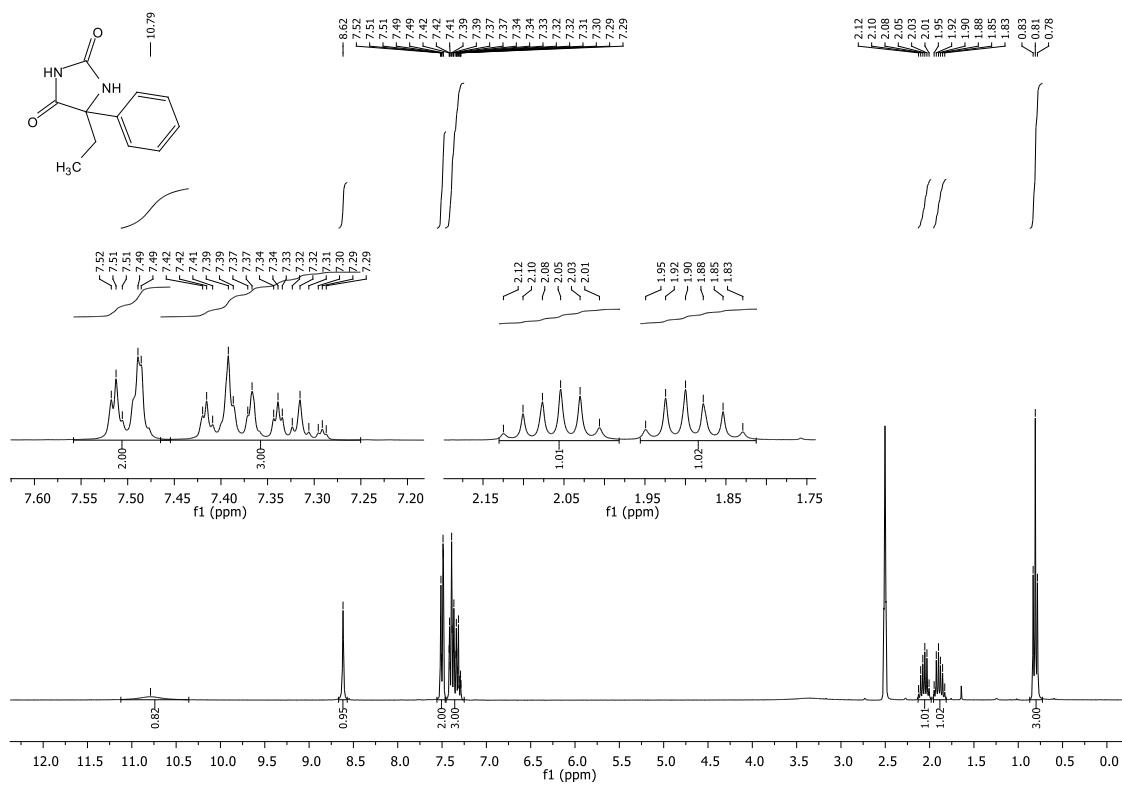
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20e** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



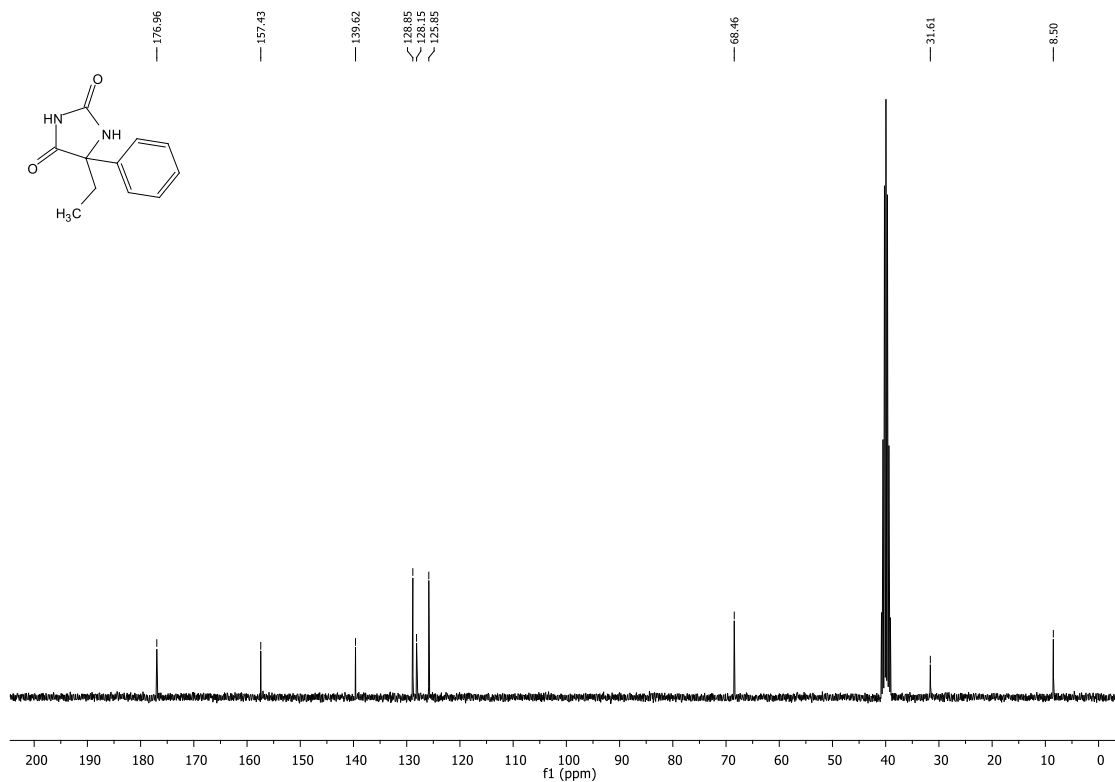
Espectro de RMN ^1H do composto **20f** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



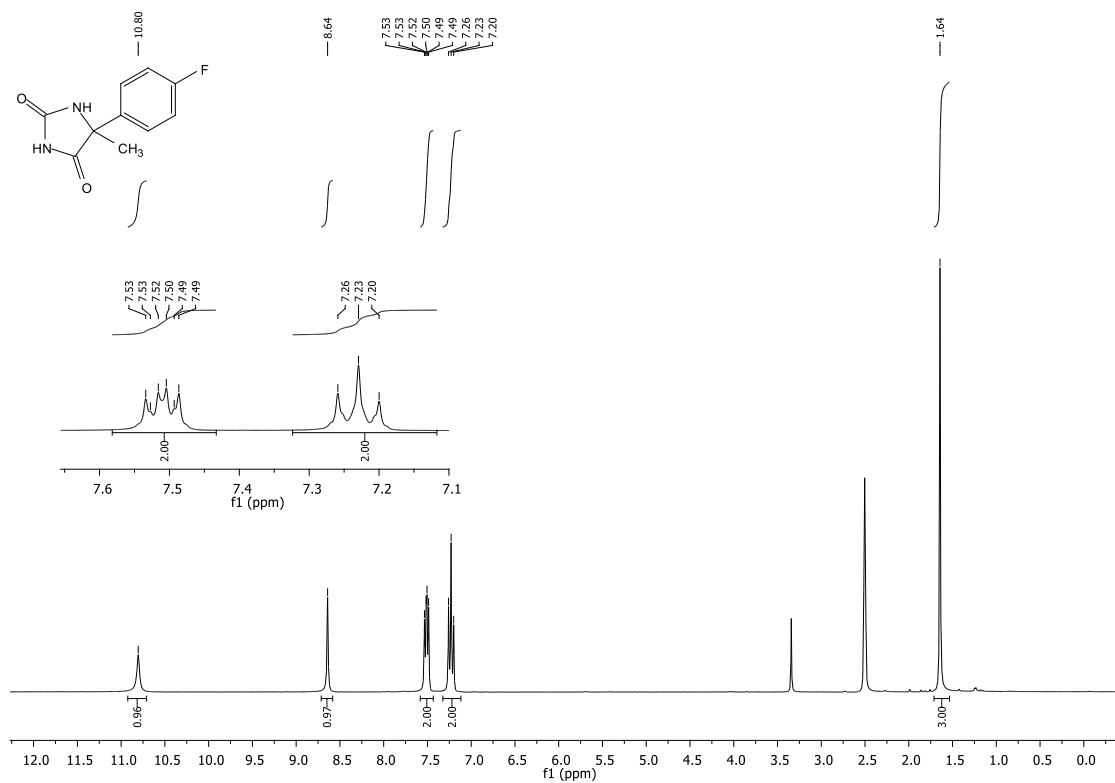
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20f** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



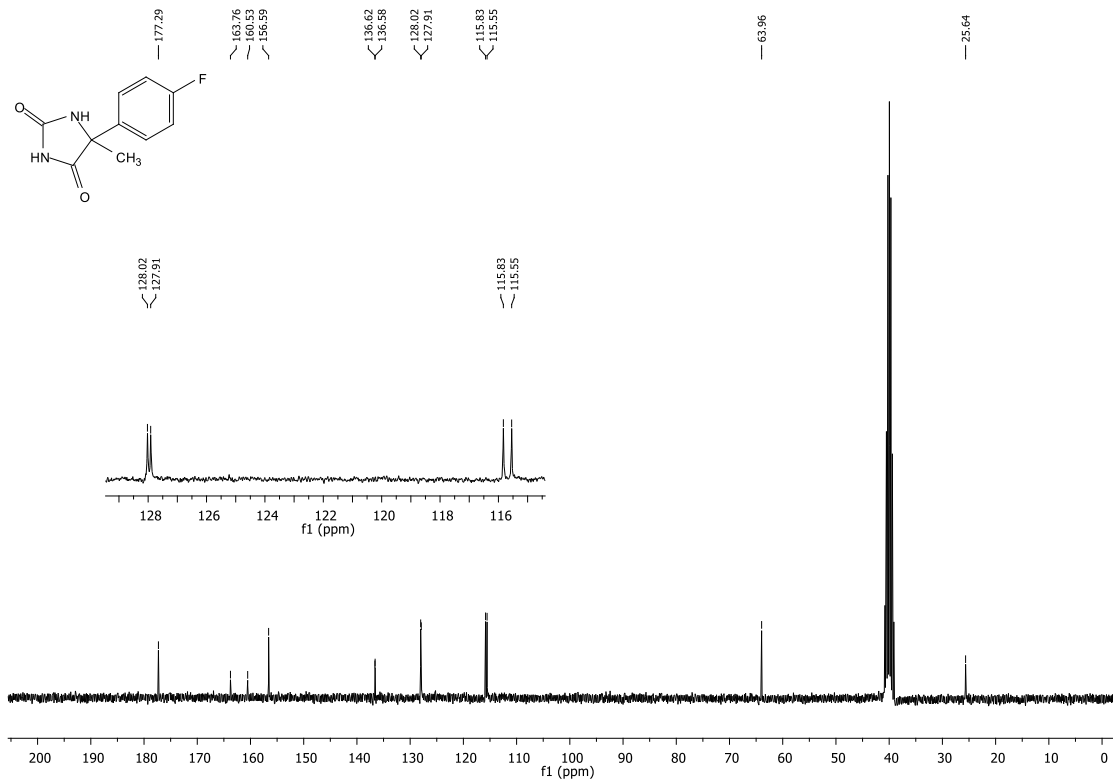
Espectro de RMN ^1H do composto **20g** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



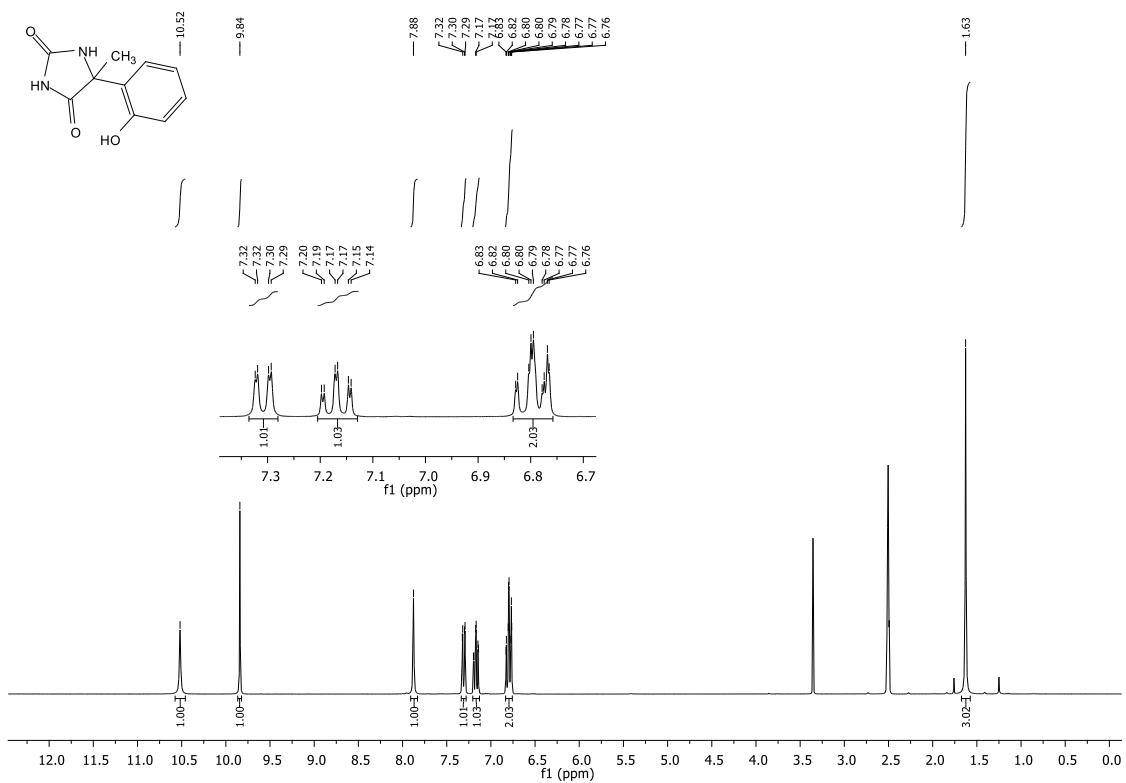
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20g** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



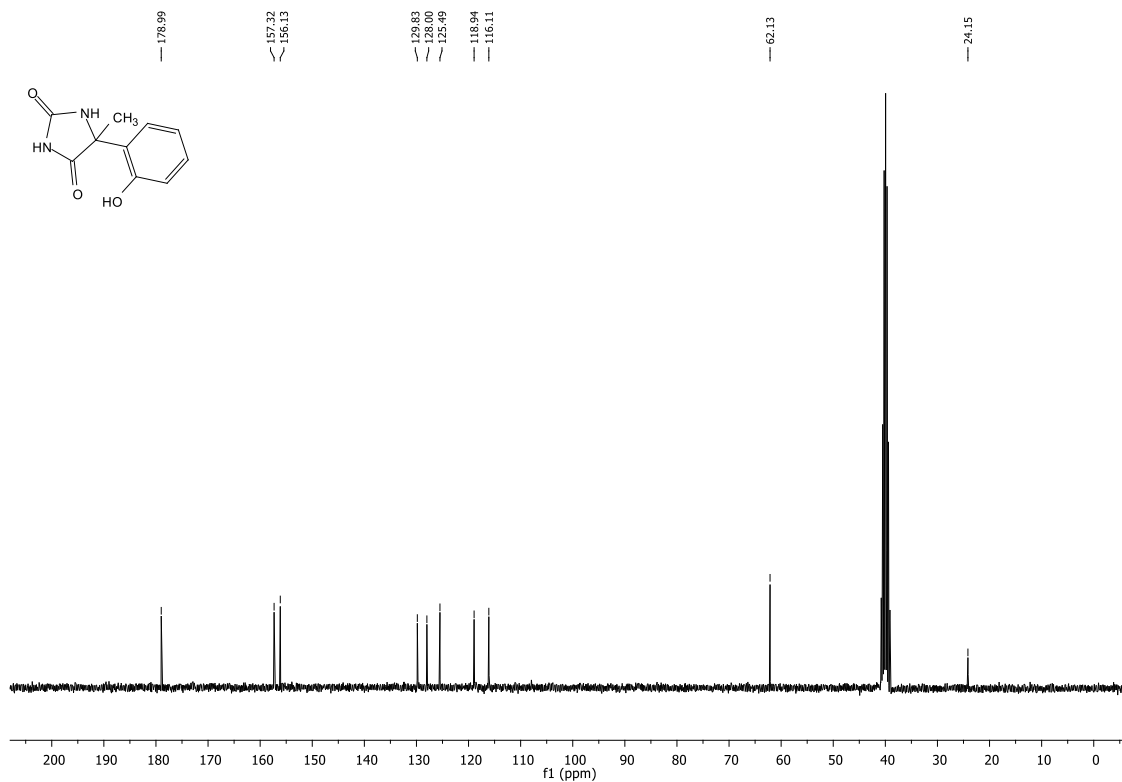
Espectro de RMN ^1H do composto **20h** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



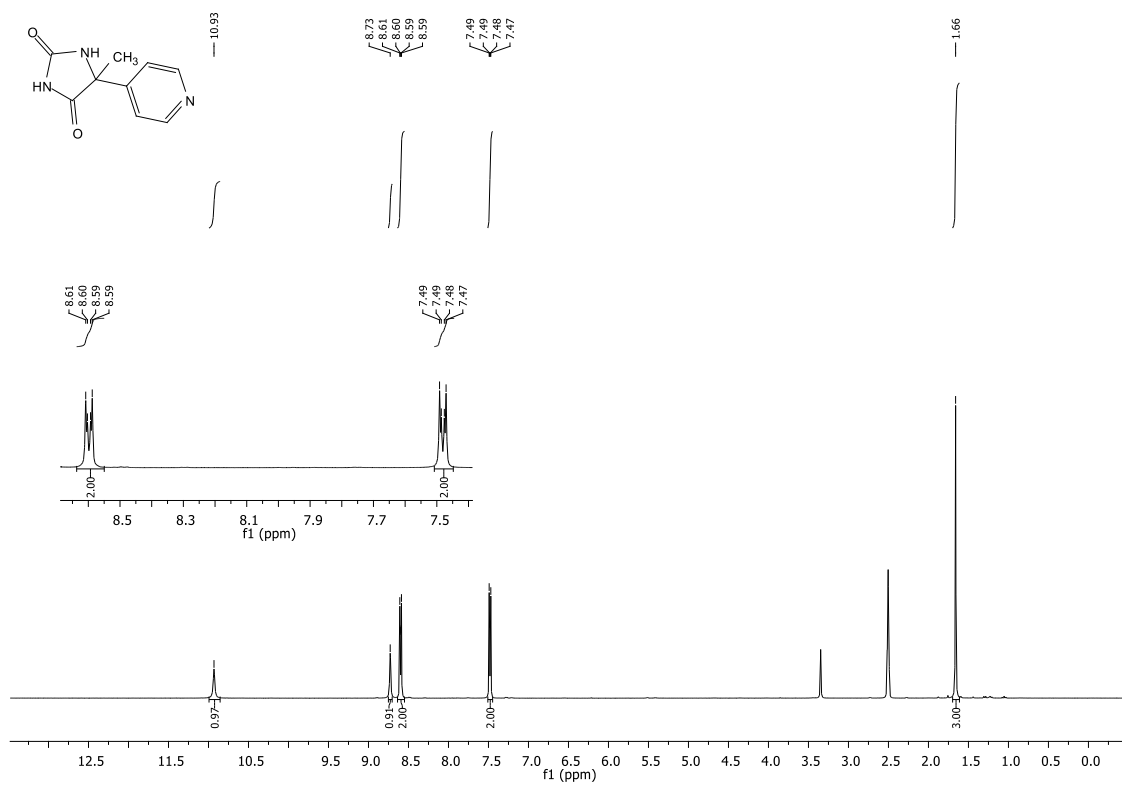
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20h** em DMSO-d_6 a 75 MHz.



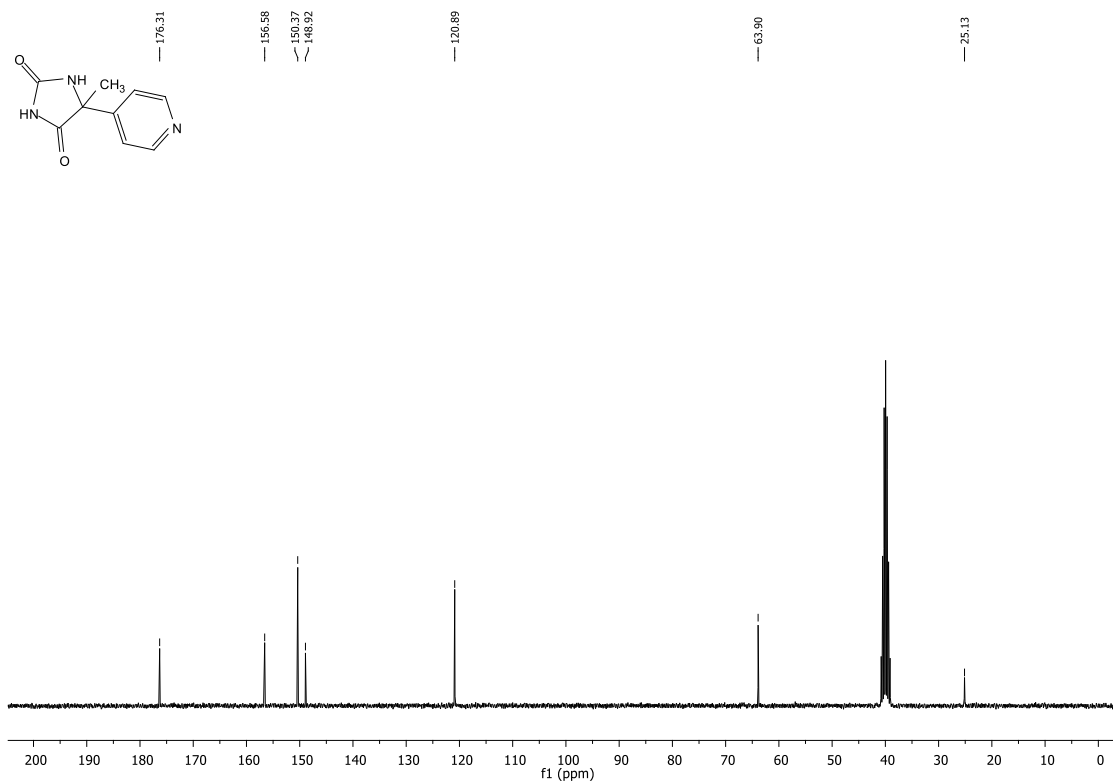
Espectro de RMN ^1H do composto **20i** em DMSO-d_6 a 300 MHz.



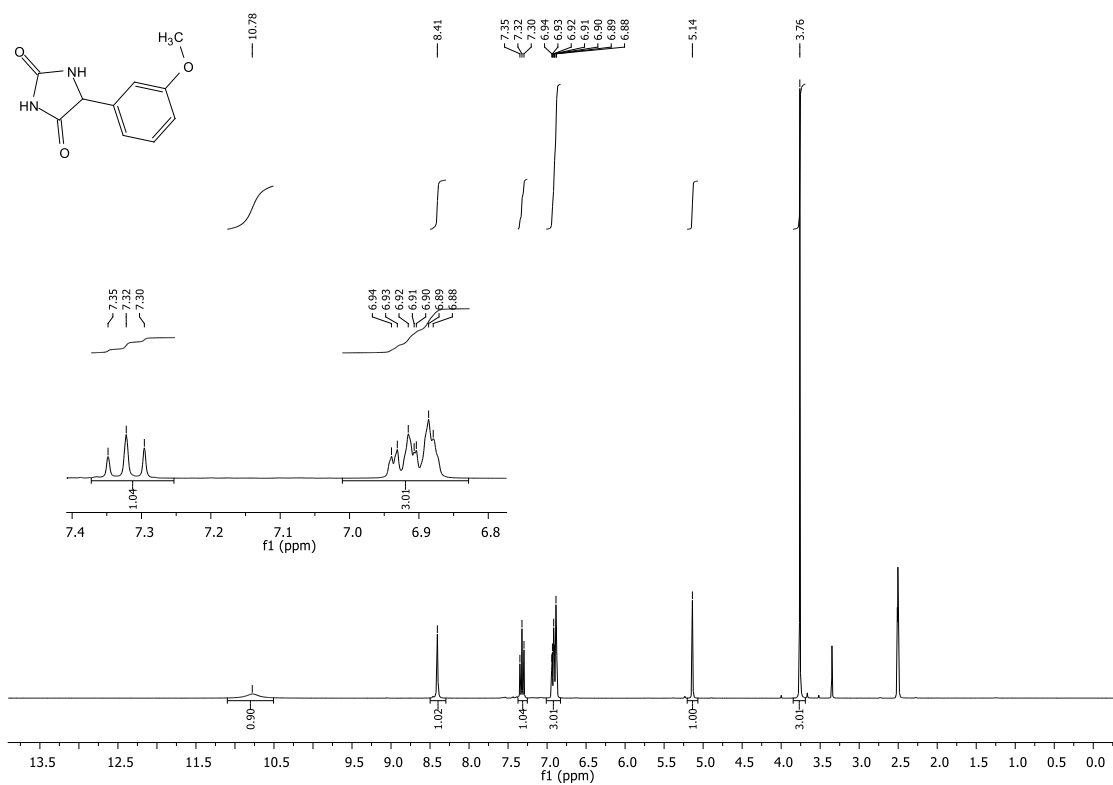
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20i** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



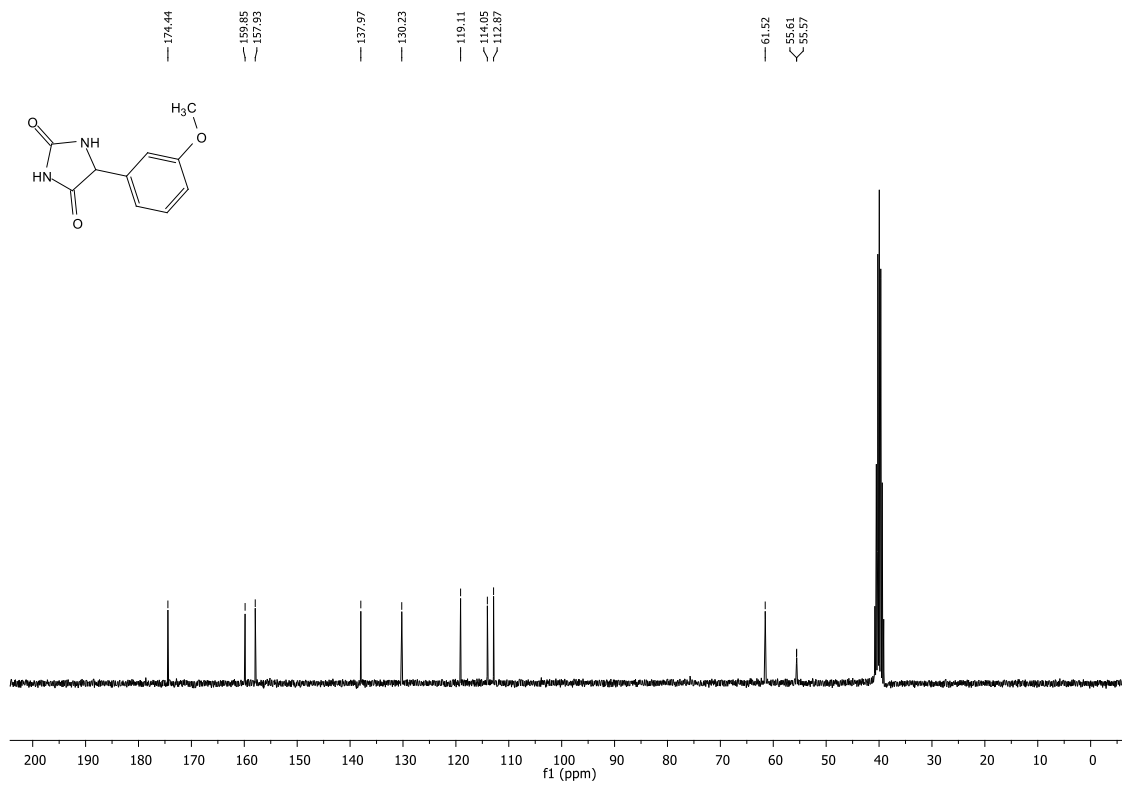
Espectro de RMN ^1H do composto **20j** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



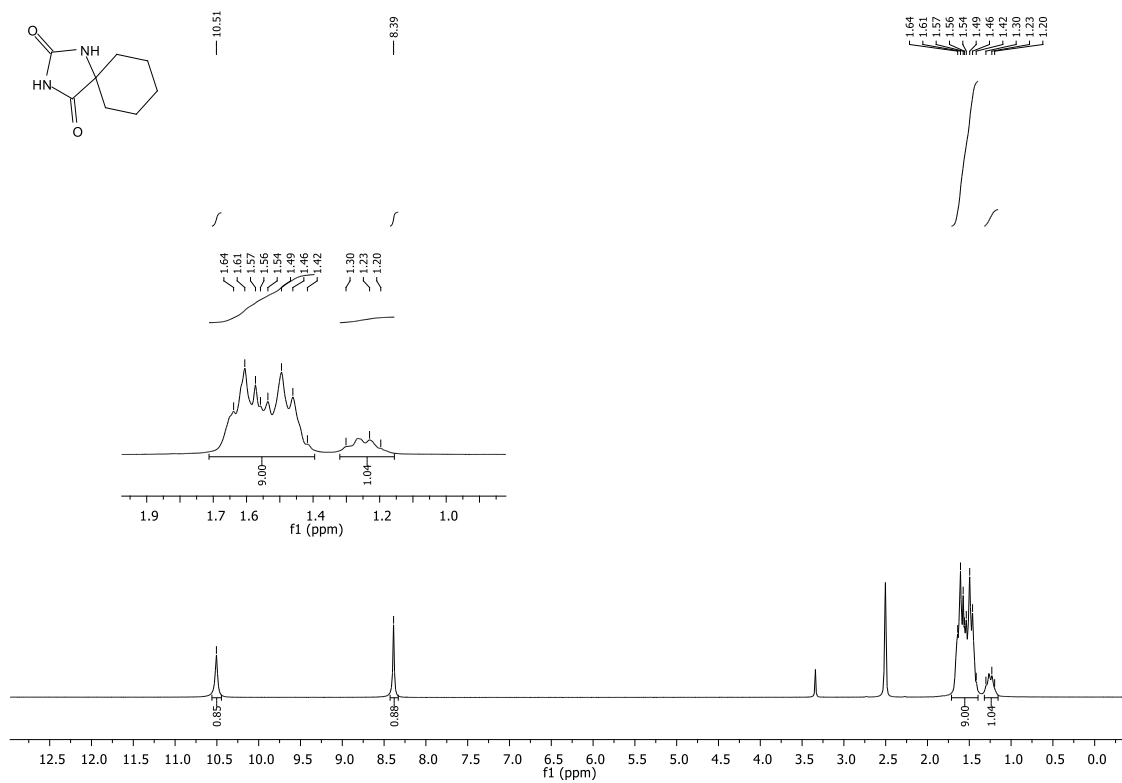
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20j** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



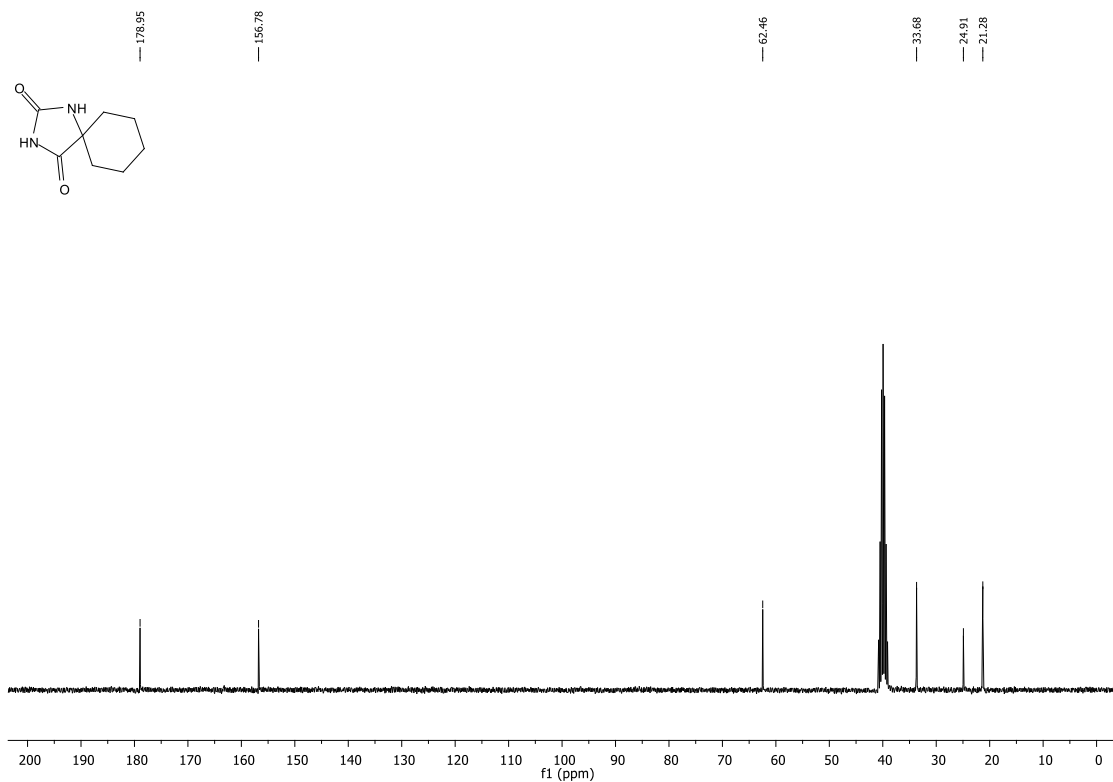
Espectro de RMN ^1H do composto **20k** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



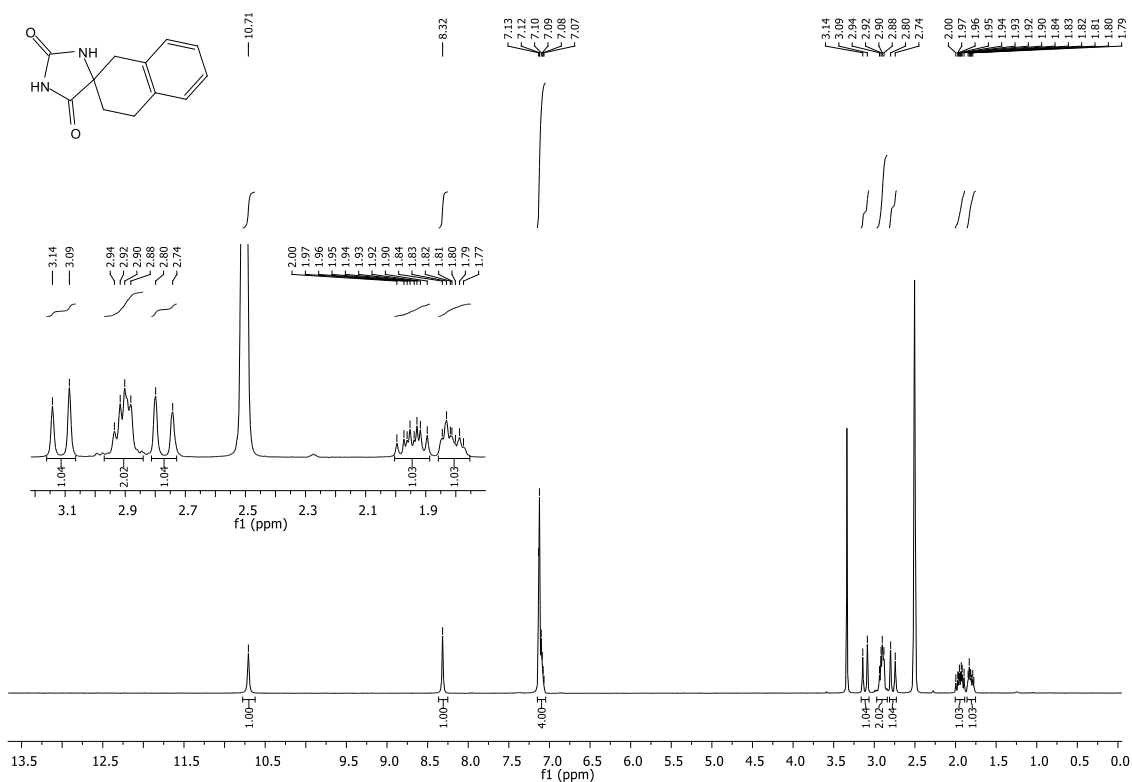
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20k** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



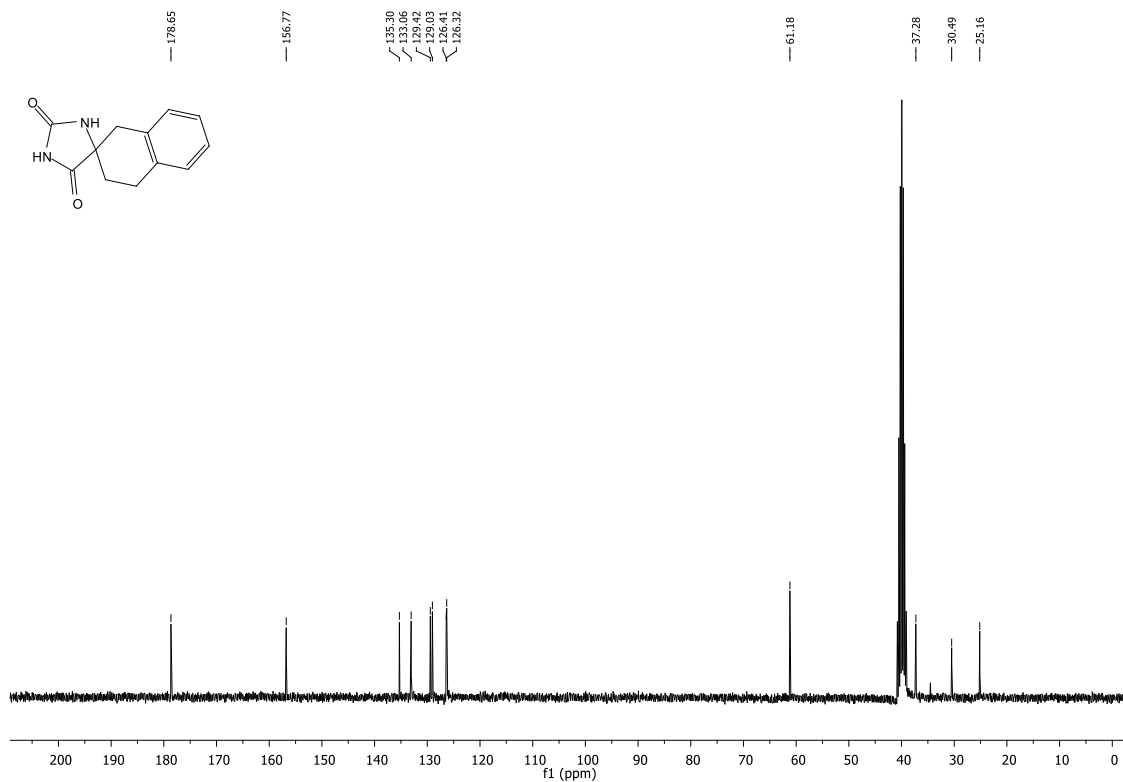
Espectro de RMN ^1H do composto **20i** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



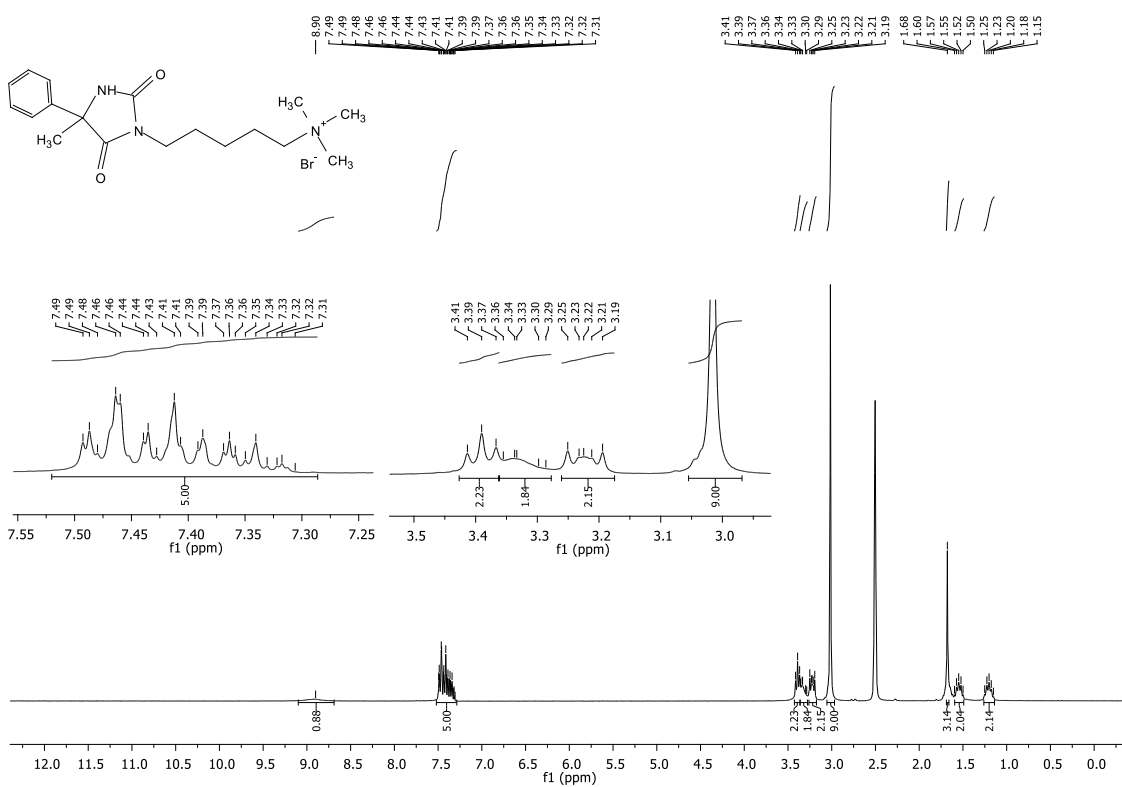
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20l** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



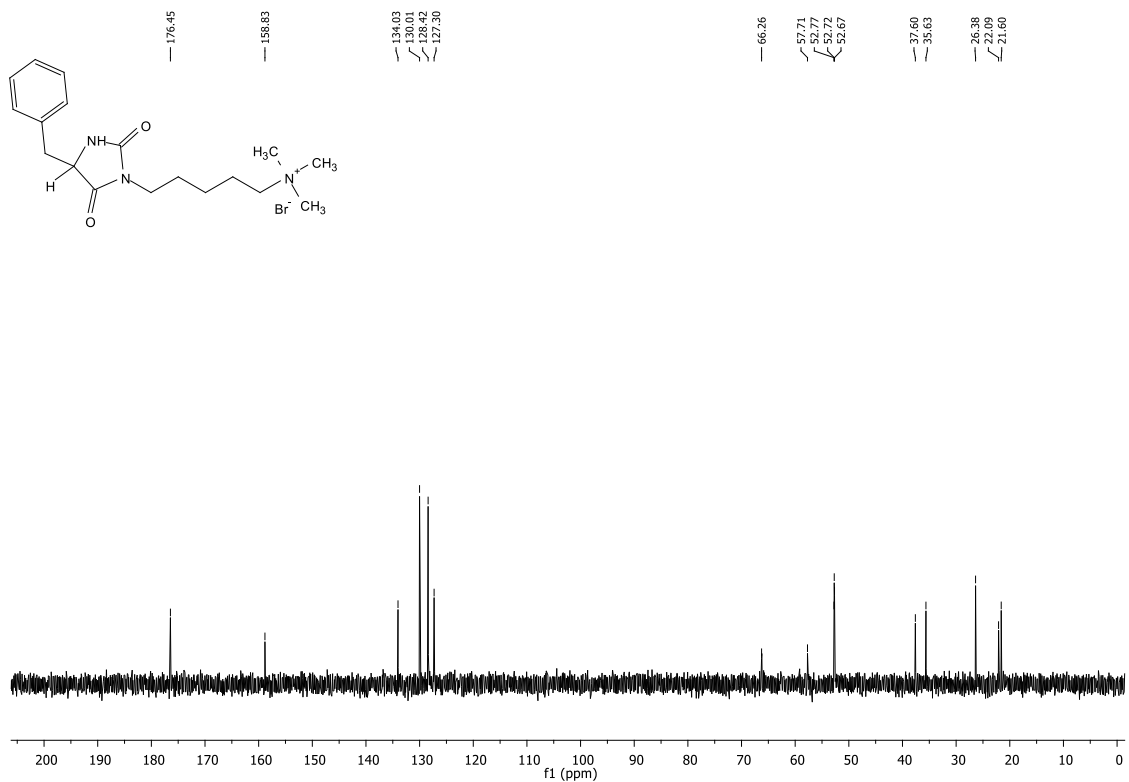
Espectro de RMN ^1H do composto **20m** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



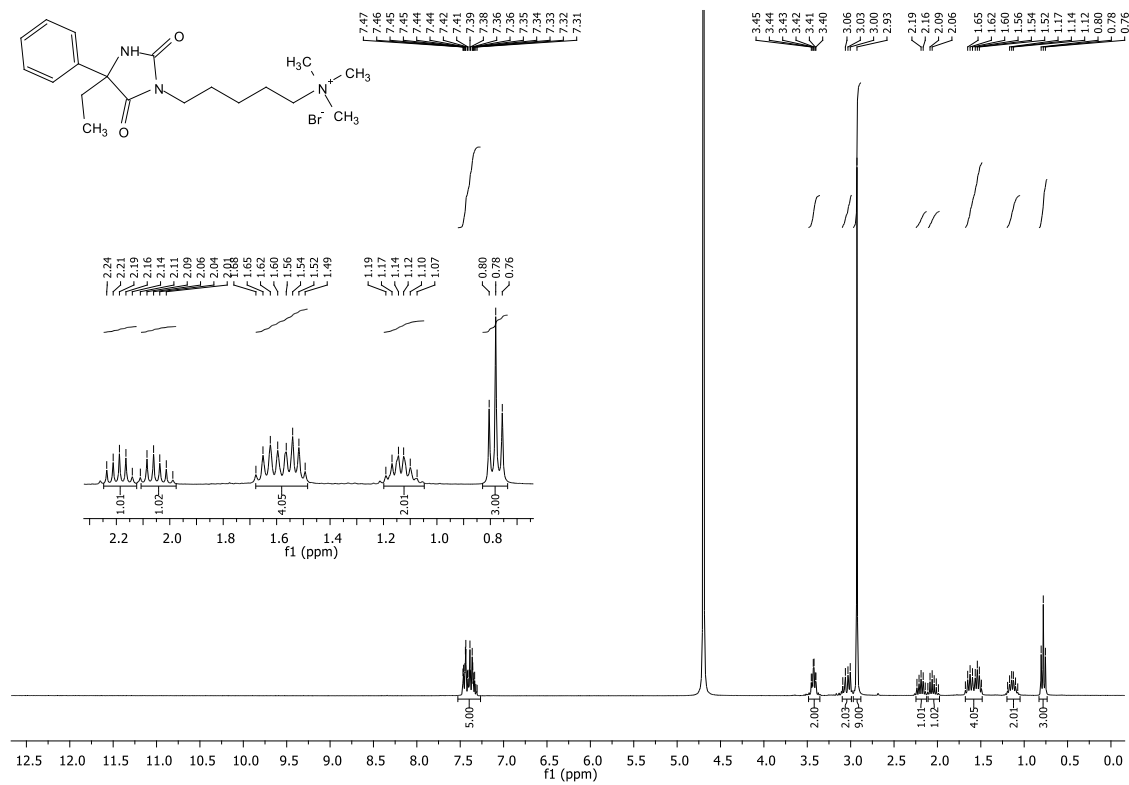
Espectro de RMN ^{13}C do composto **20m** em DMSO- d_6 a 75 MHz.



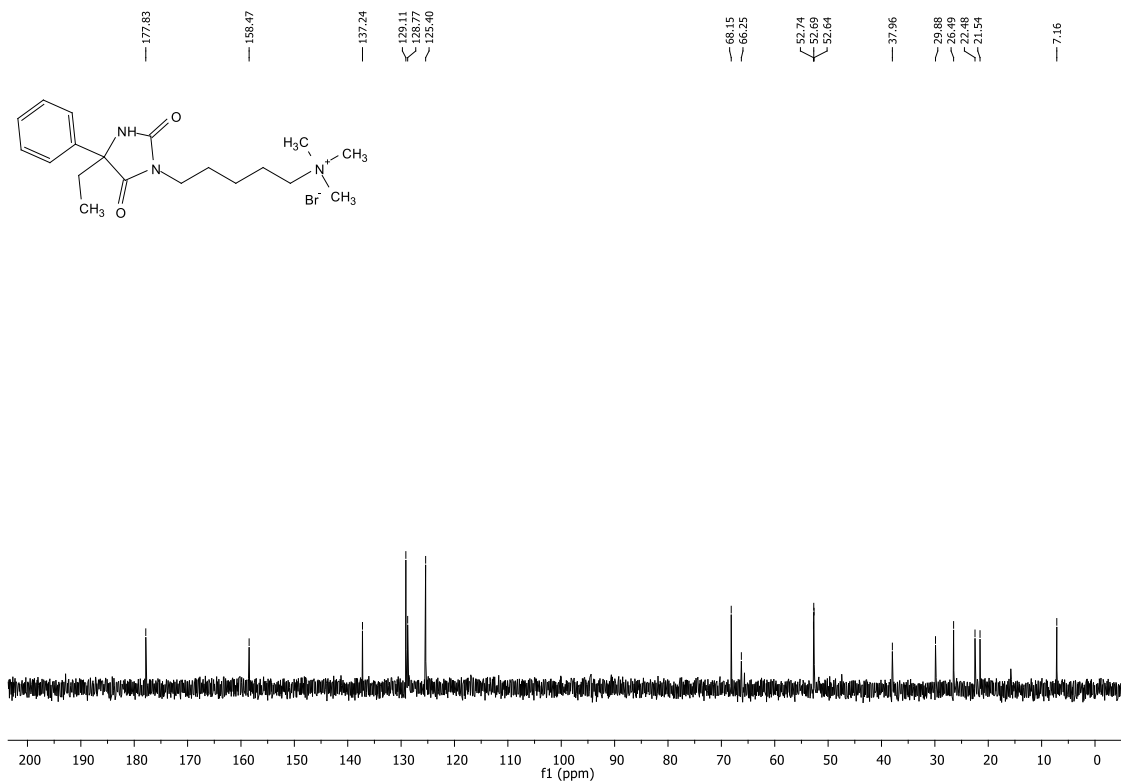
Espectro de RMN ^1H do composto **24a** em DMSO- d_6 a 300 MHz.



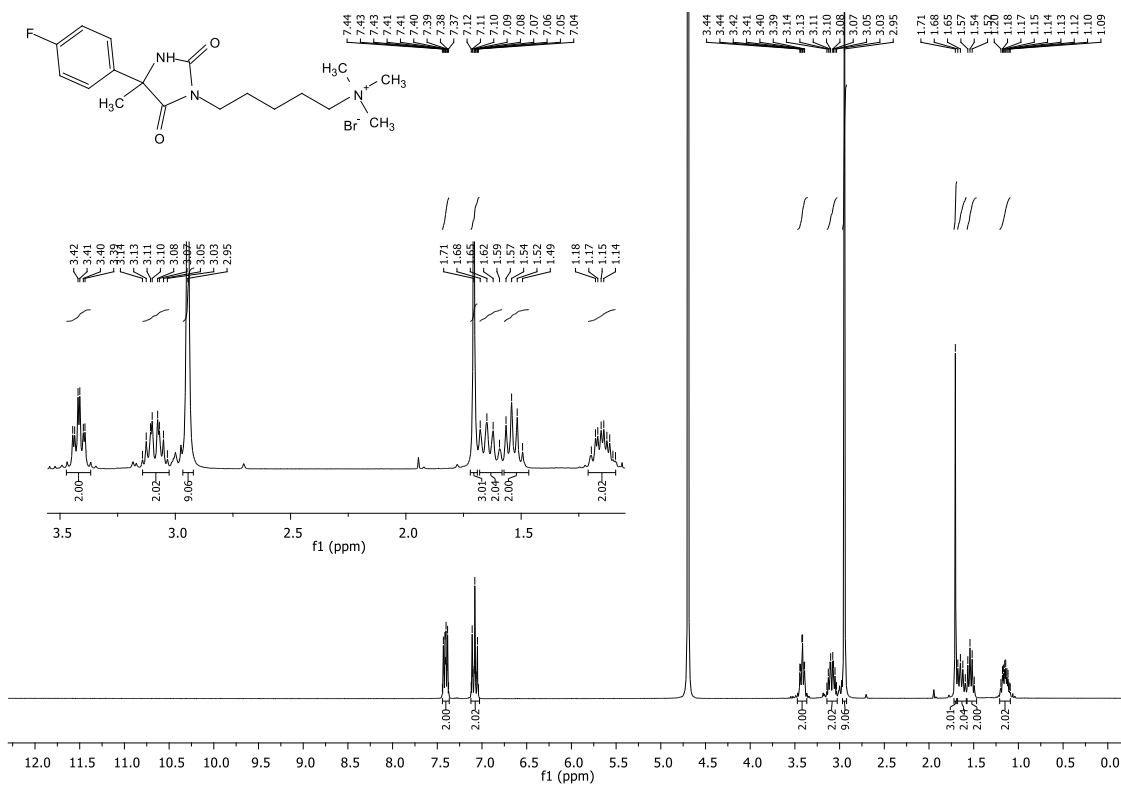
Espectro de RMN ^{13}C do composto **24c** em D_2O a 75 MHz.



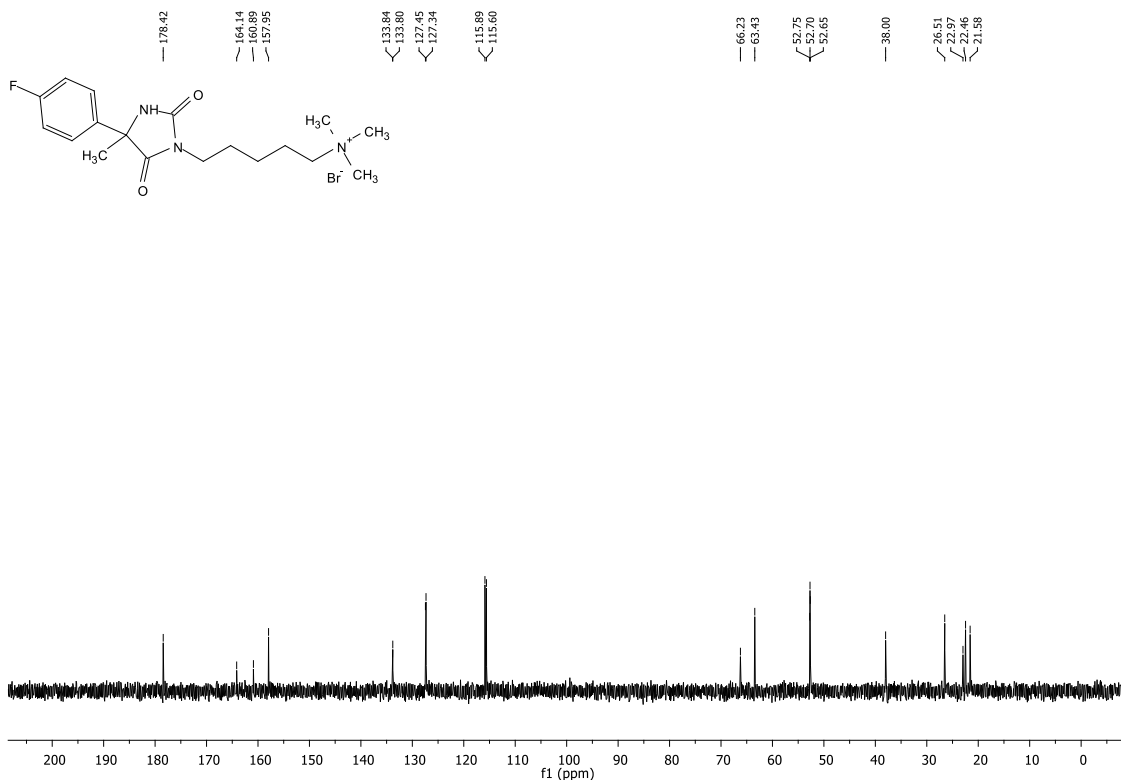
Espectro de RMN ^1H do composto **24d** em D_2O a 300 MHz.



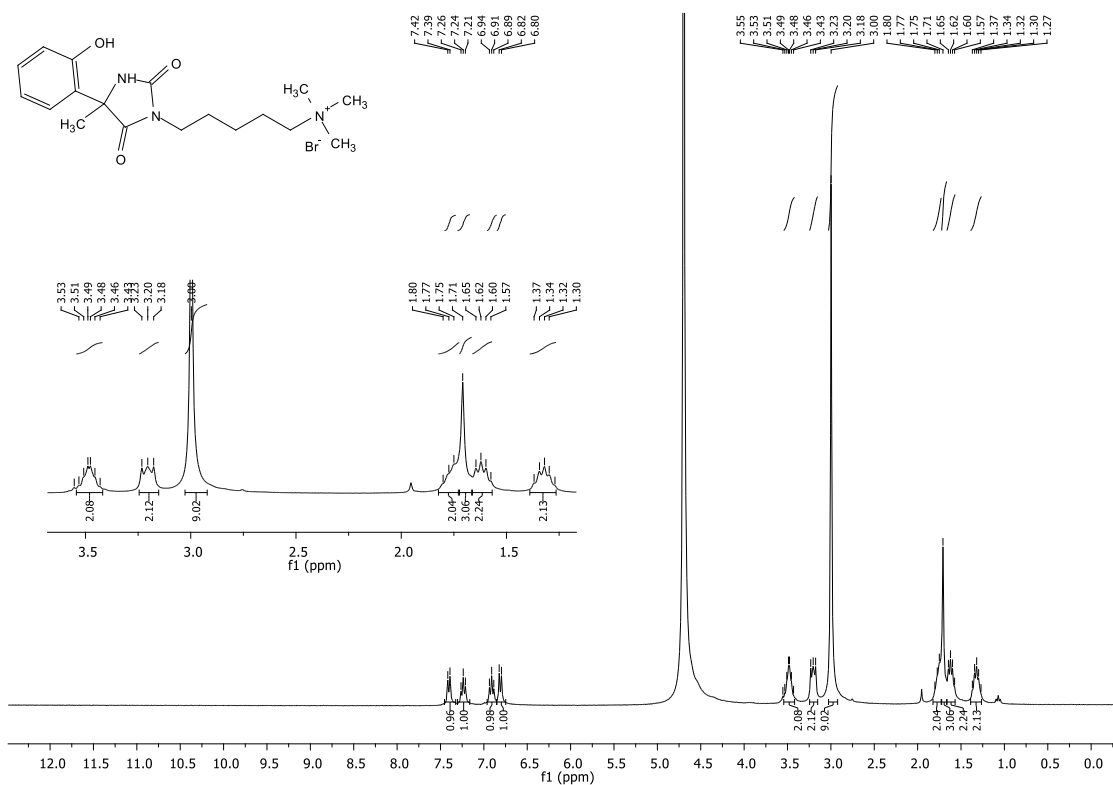
Espectro de RMN ^{13}C do composto **24d** em D_2O a 75 MHz.



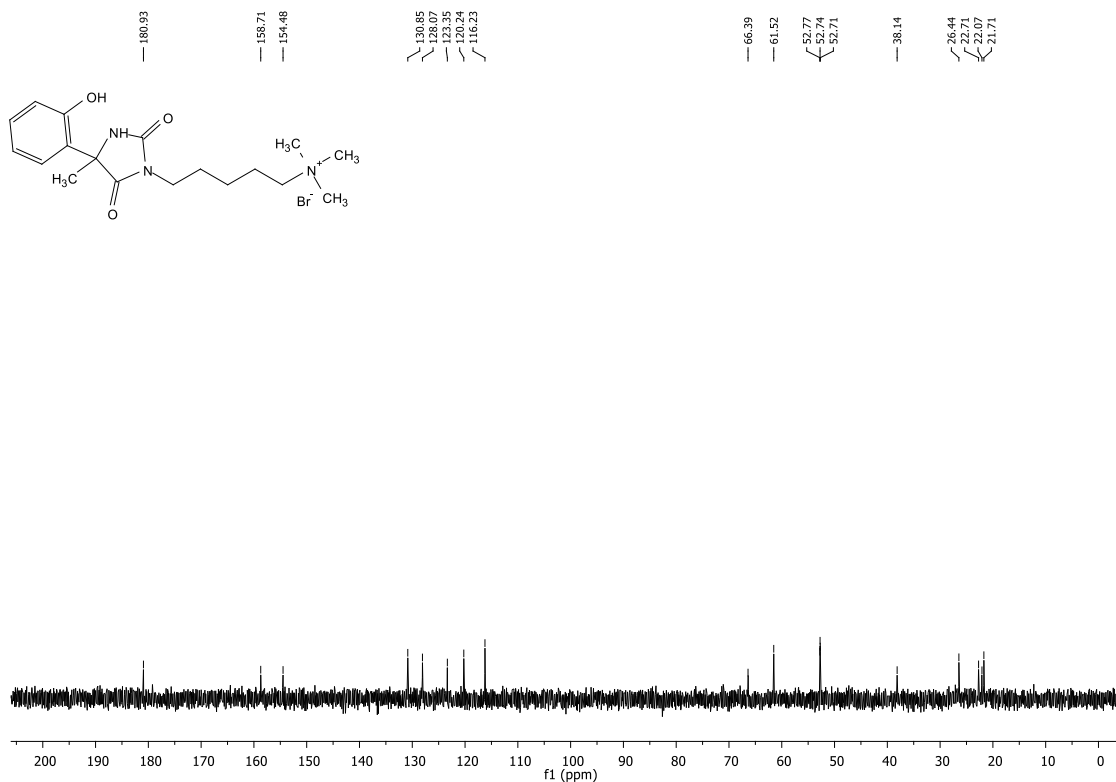
Espectro de RMN ^1H do composto **24e** em D_2O a 300 MHz.



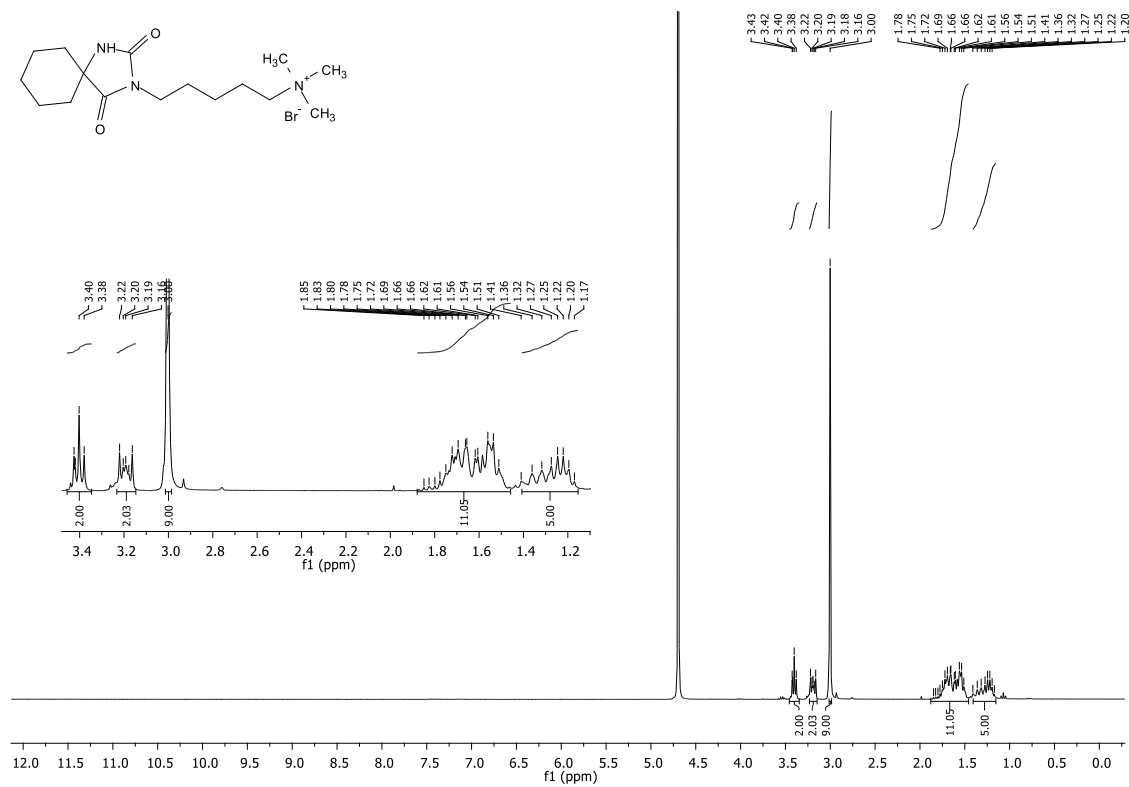
Espectro de RMN ^{13}C do composto **24e** em D_2O a 75 MHz.



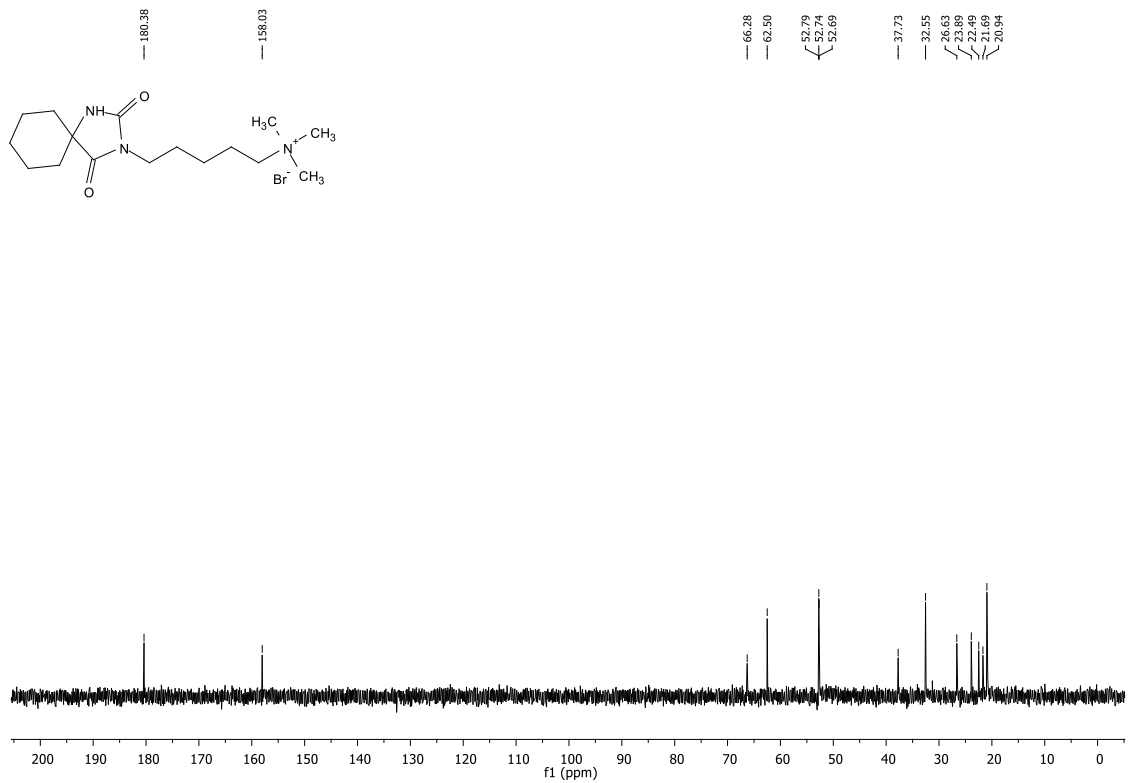
Espectro de RMN ^1H do composto **24f** em D_2O a 300 MHz.



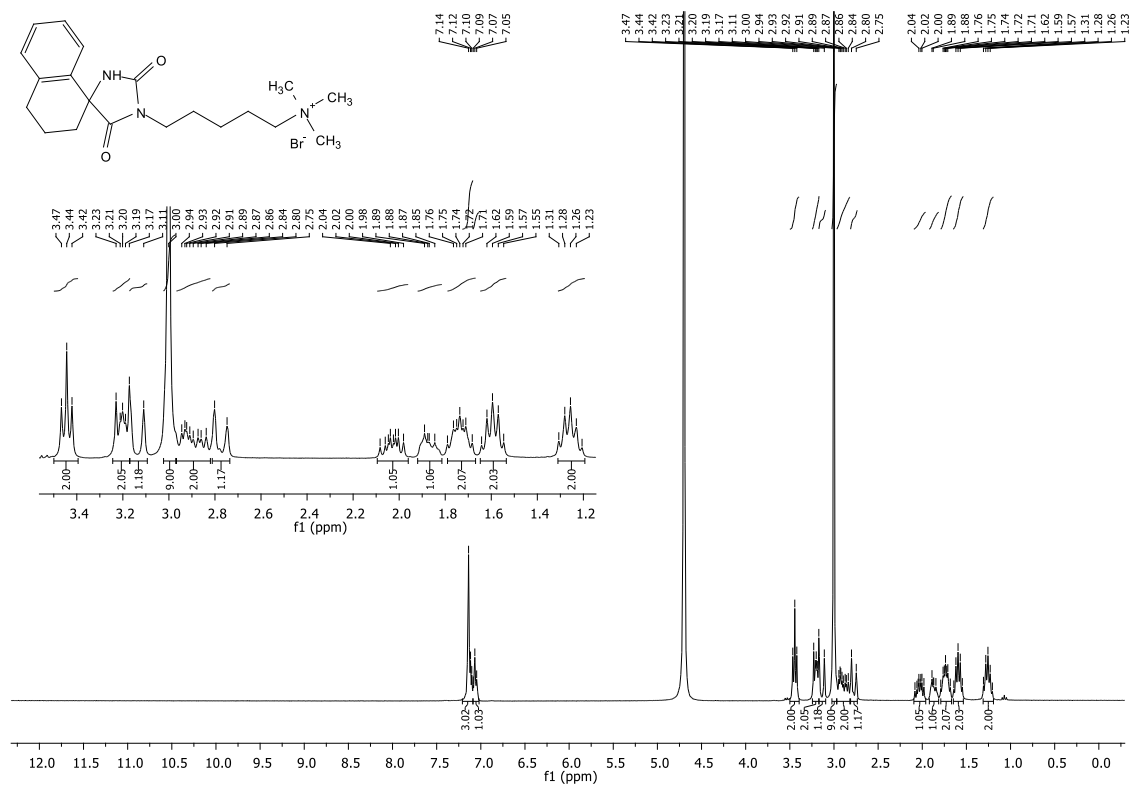
Espectro de RMN ^{13}C do composto **24f** em D_2O a 75 MHz.



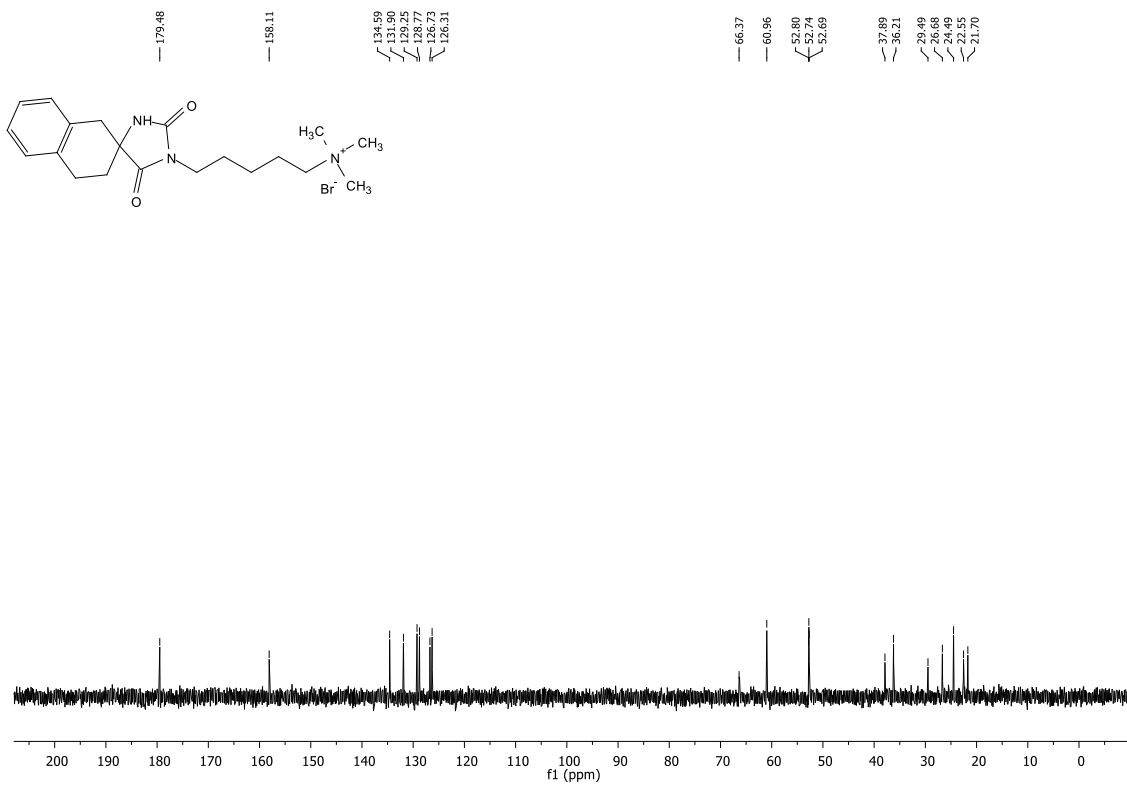
Espectro de RMN ^1H do composto **24i** em D_2O a 300 MHz.



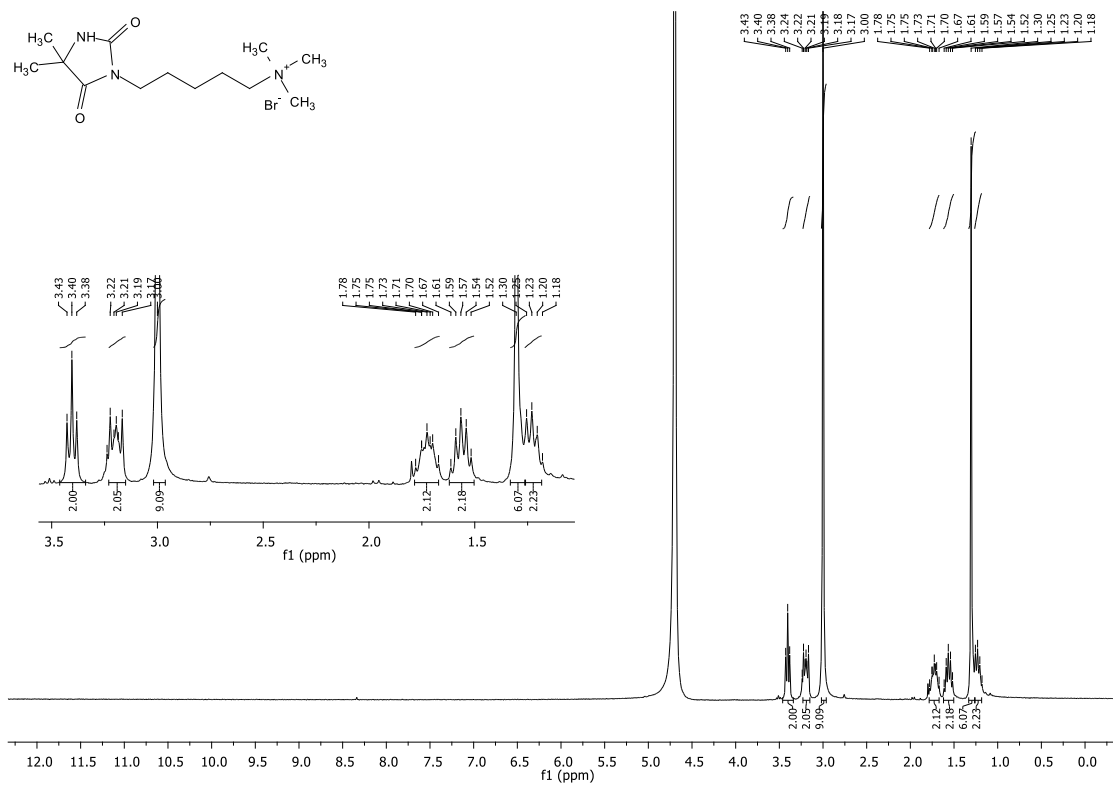
Espectro de RMN ^{13}C do composto 24i em D_2O a 75 MHz.



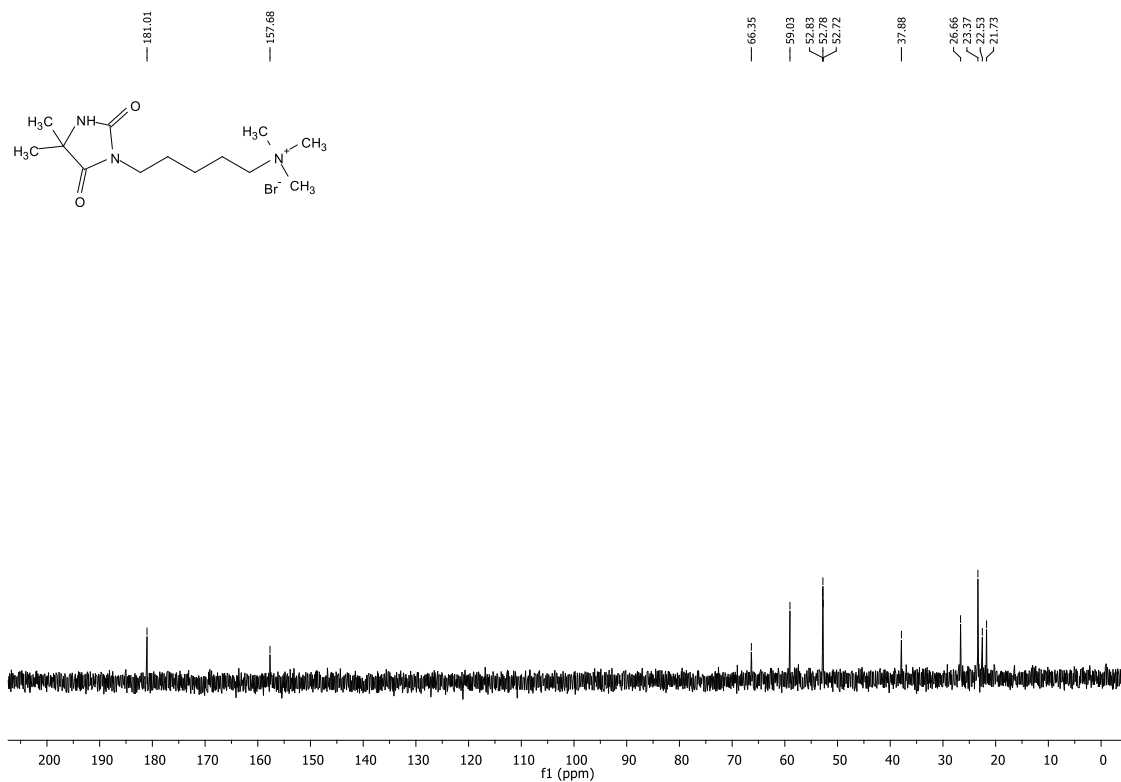
Espectro de RMN ^1H do composto 24j em D_2O a 300 MHz.



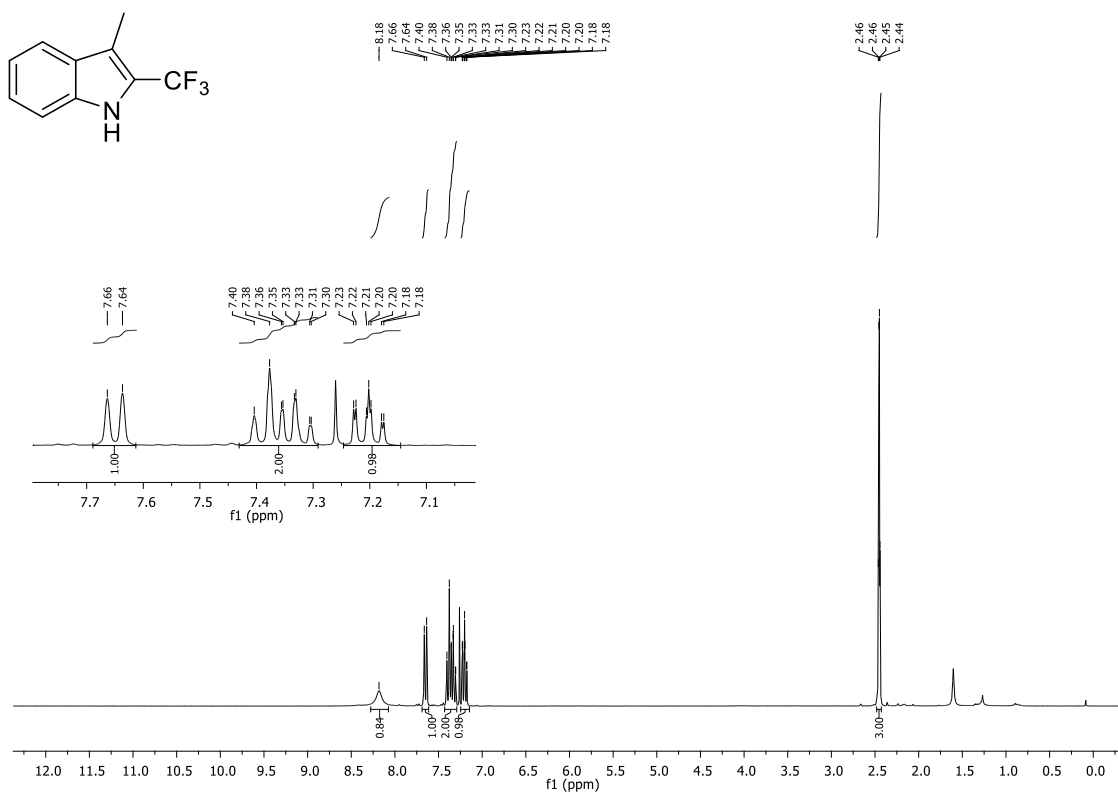
Espectro de RMN ^{13}C do composto **24j** em D_2O a 75 MHz.



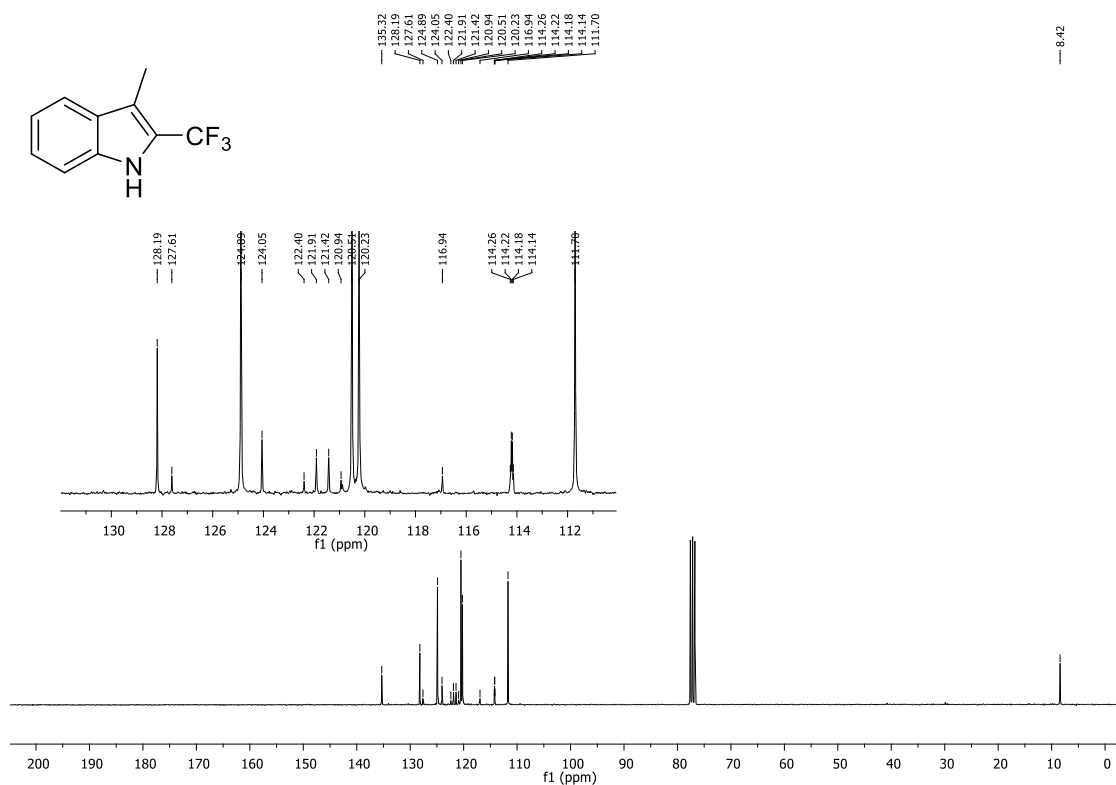
Espectro de RMN ^1H do composto **24k** em D_2O a 300 MHz.



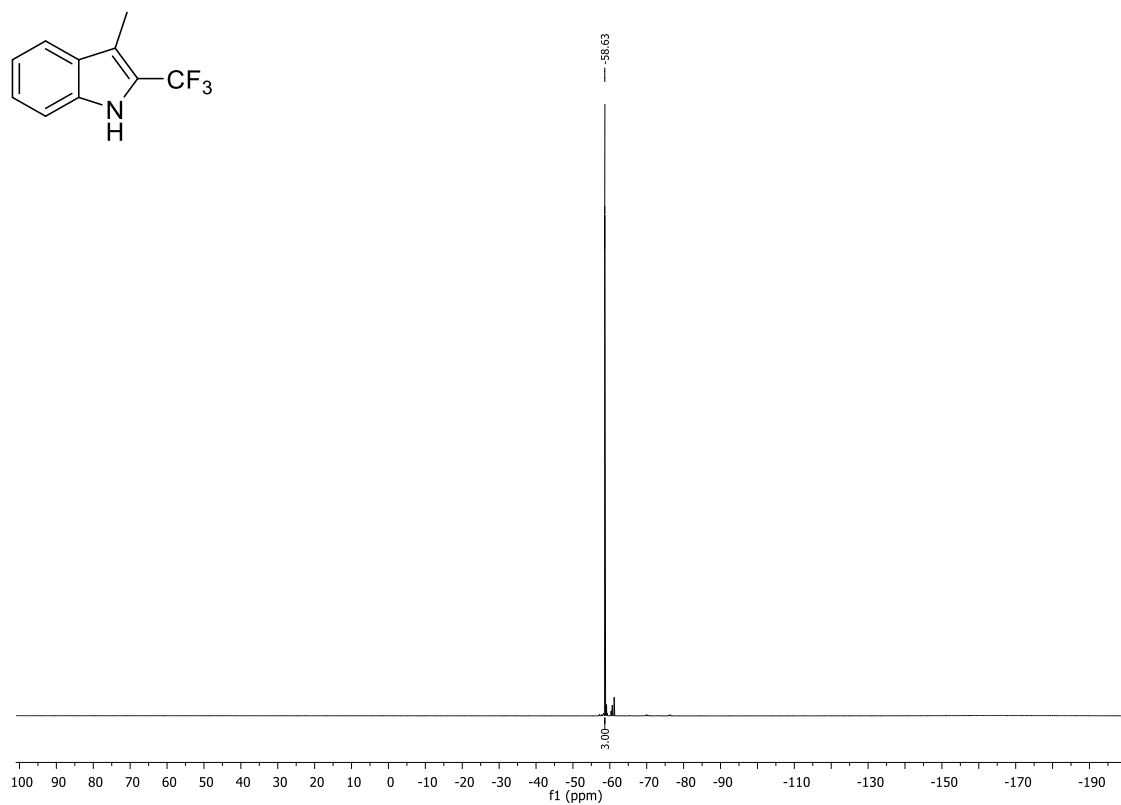
Espectro de RMN ^{13}C do composto **24k** em D_2O a 75 MHz.



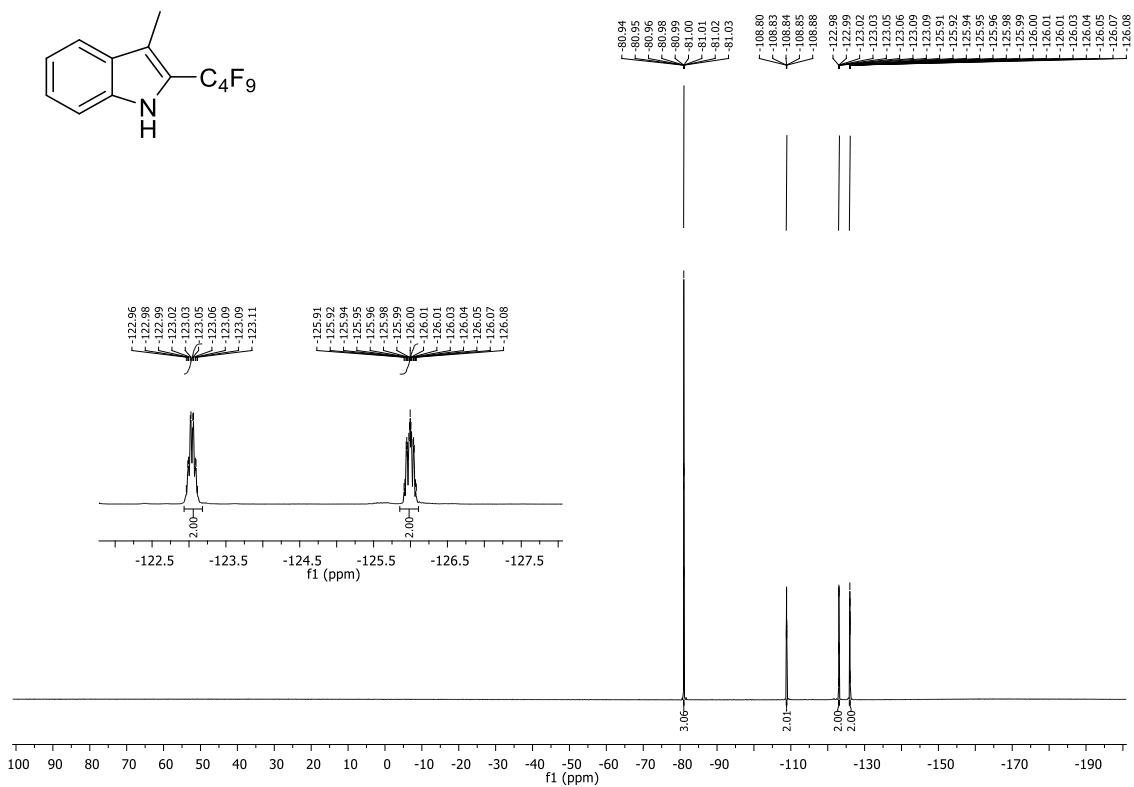
Espectro de RMN ^1H do composto **25a** em CDCl_3 a 300 MHz.



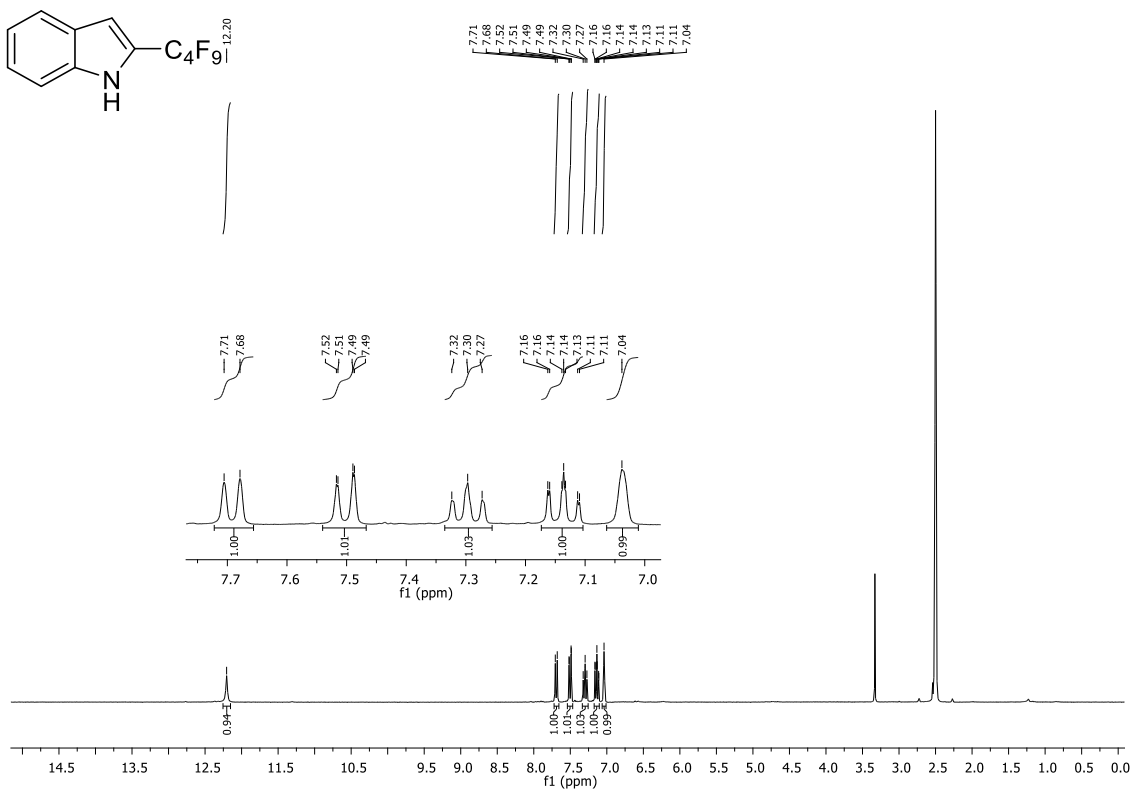
Espectro de RMN ¹³C do composto **25a** em CDCl₃ a 75 MHz.



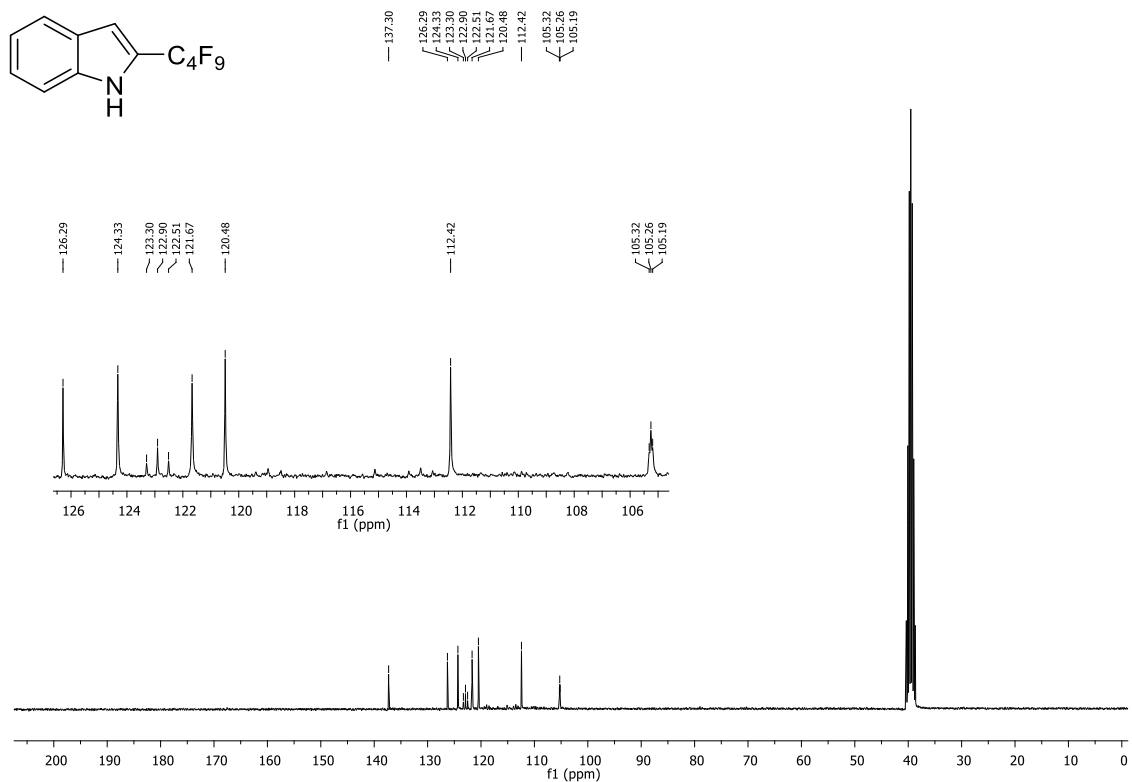
Espectro de RMN ¹⁹F do composto **25a** em CDCl₃ a 282 MHz.



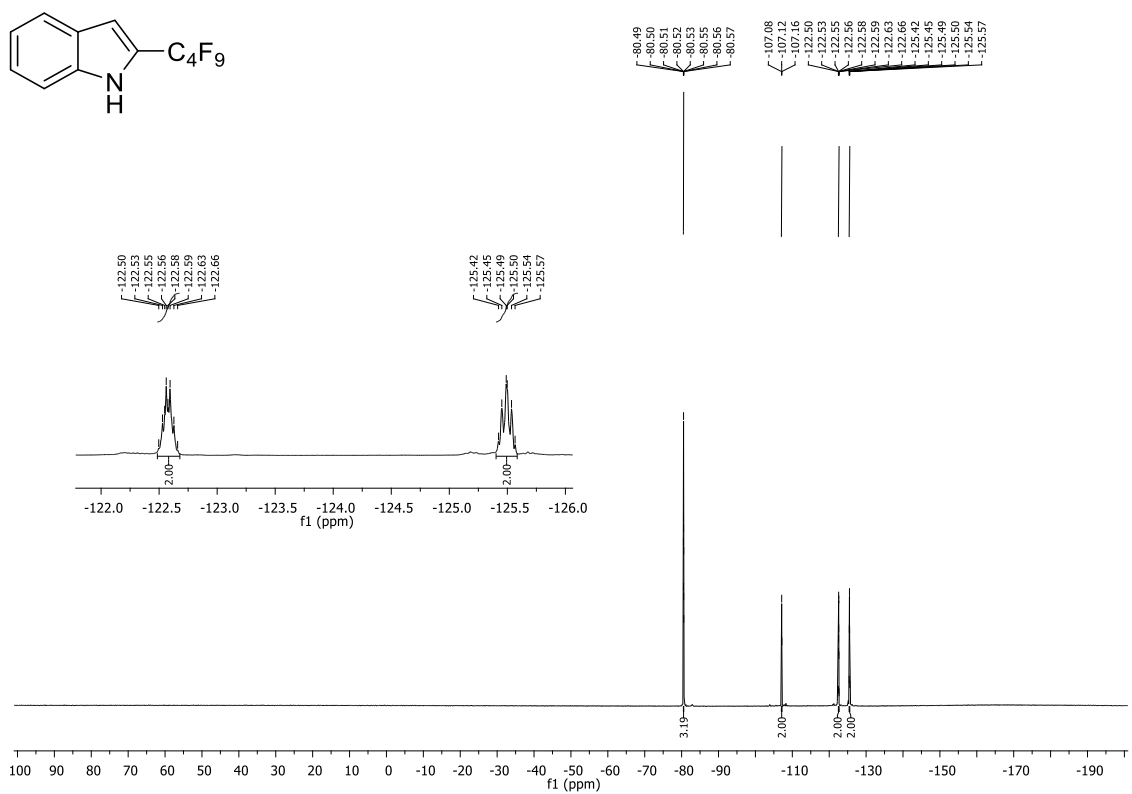
Espectro de RMN ^{19}F do composto **25b** em CDCl_3 a 282 MHz.



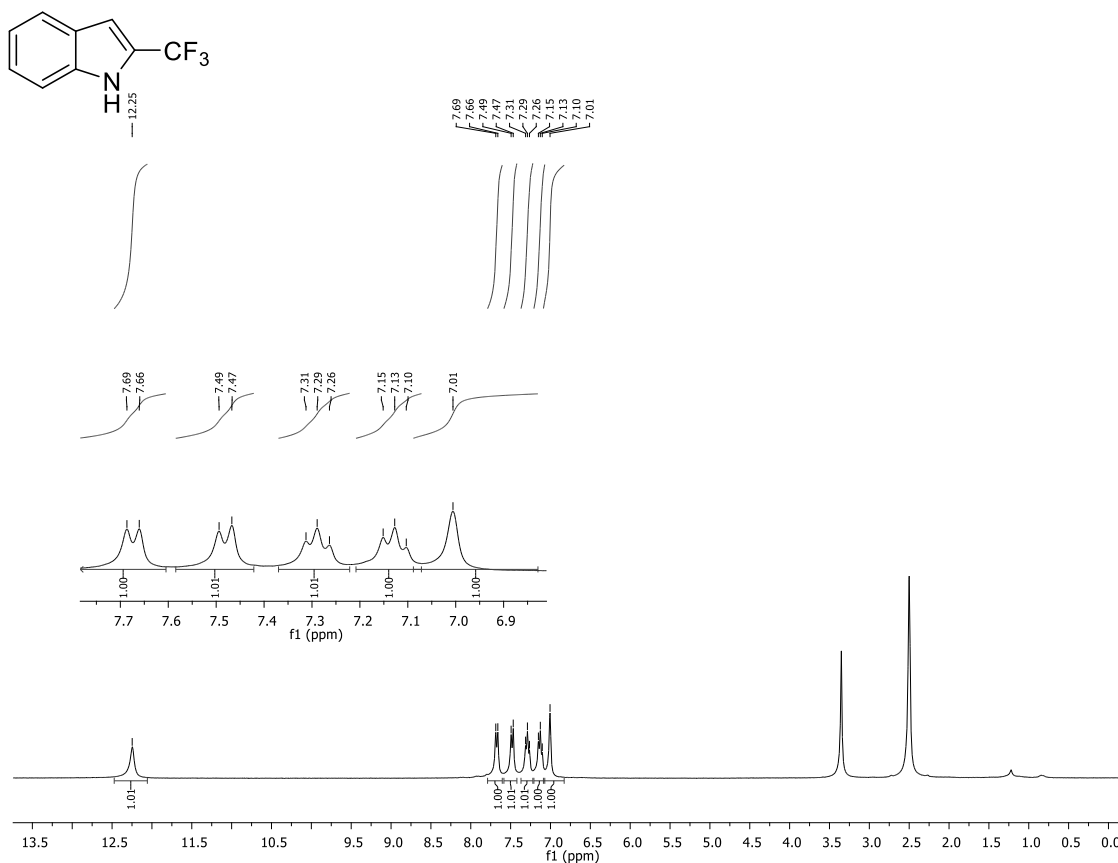
Espectro de RMN ^1H do composto **25c** em CDCl_3 a 300 MHz.



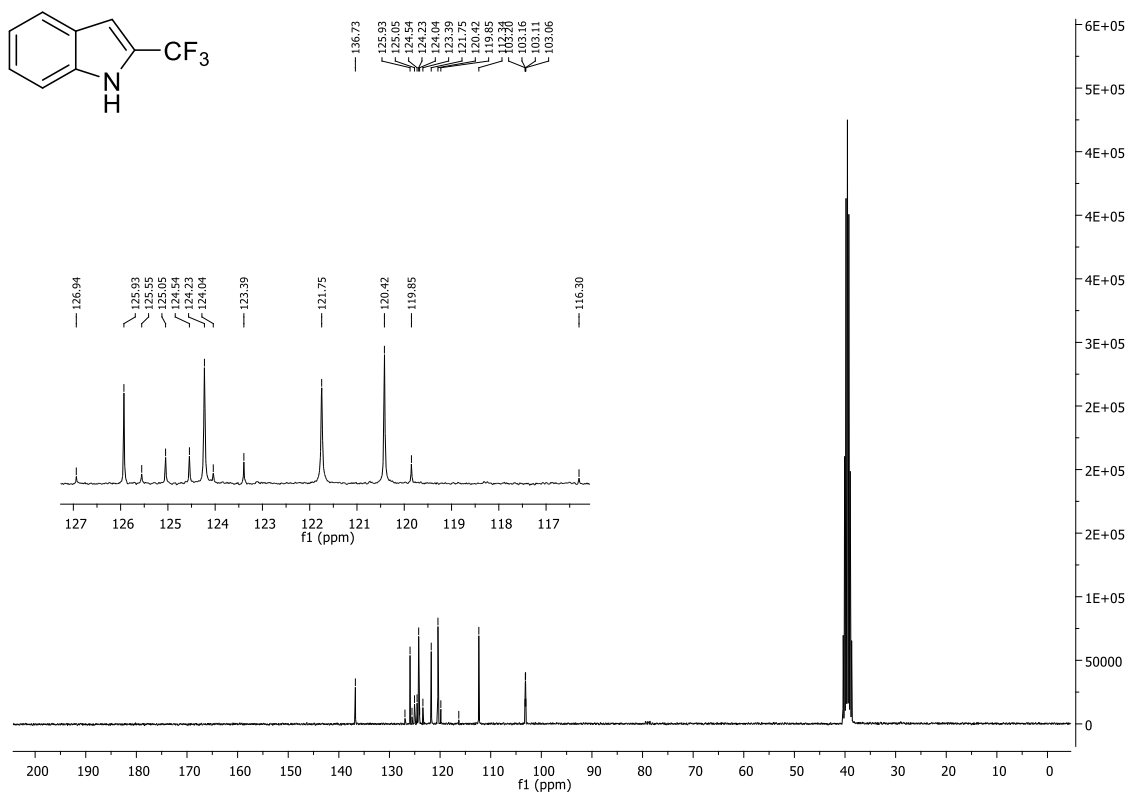
Espectro de RMN ^{13}C do composto **25c** em CDCl_3 a 75 MHz.



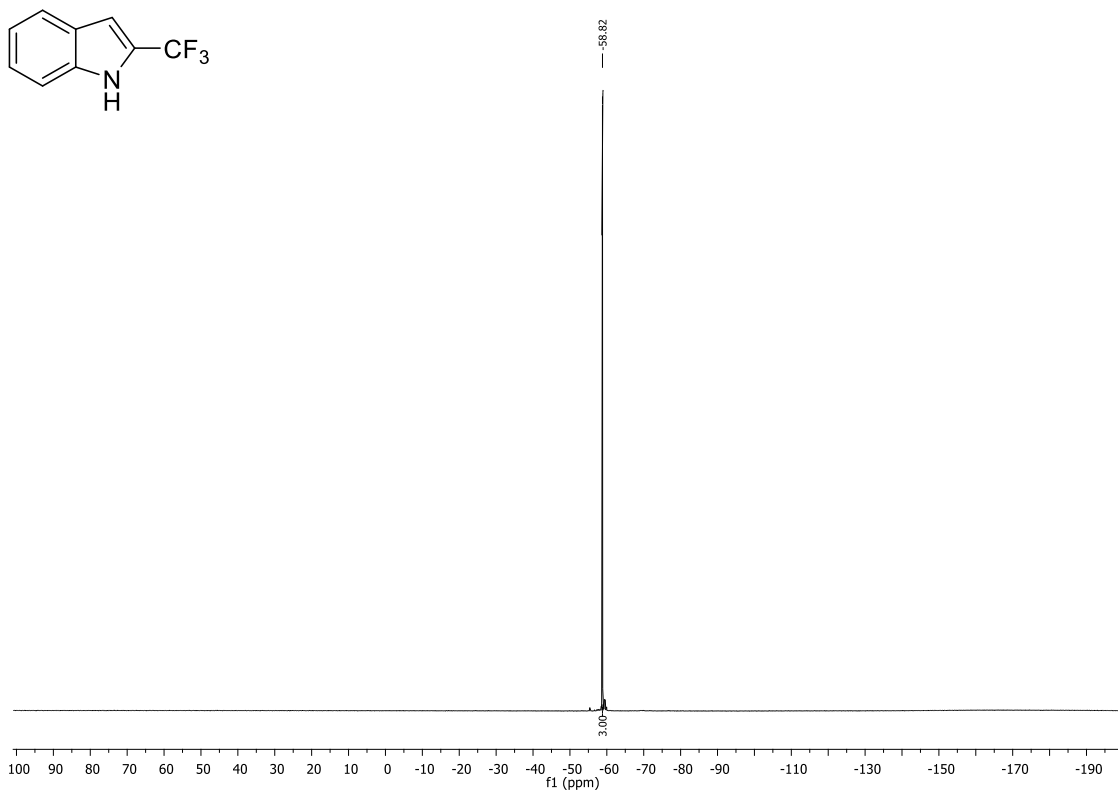
Espectro de RMN ^{19}F do composto **25c** em CDCl_3 a 282 MHz.



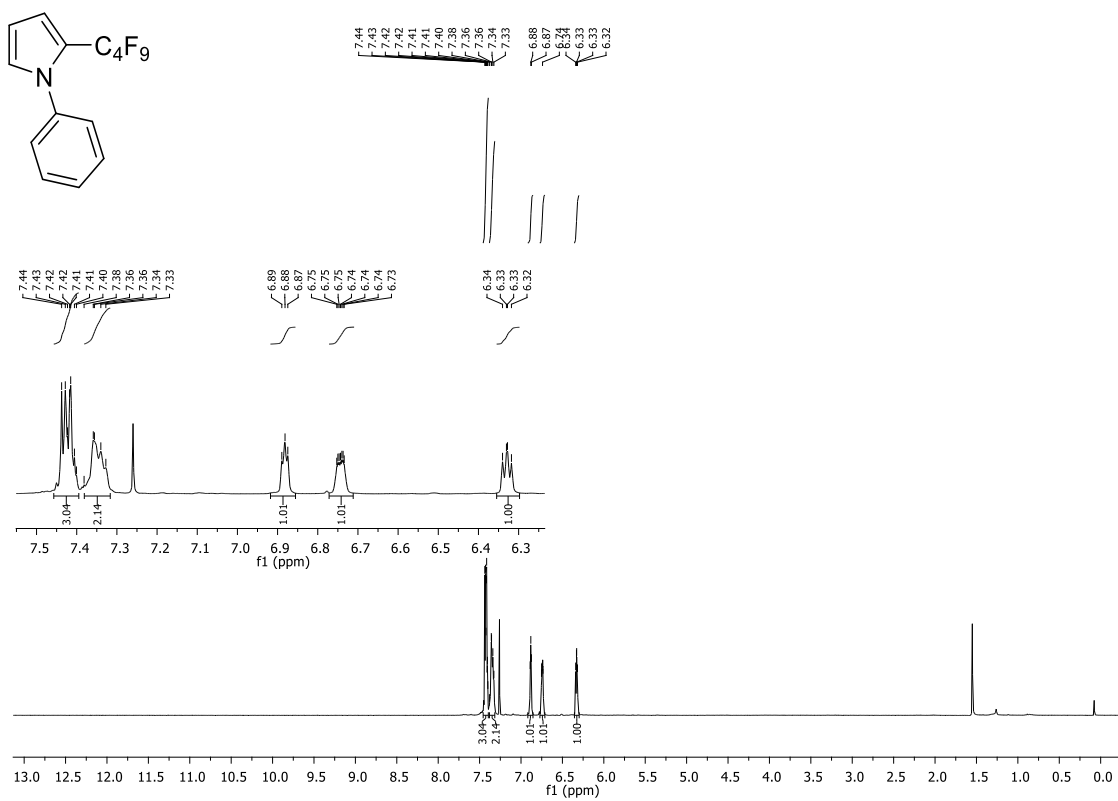
Espectro de RMN ^1H do composto **25d** em CDCl_3 a 300 MHz.



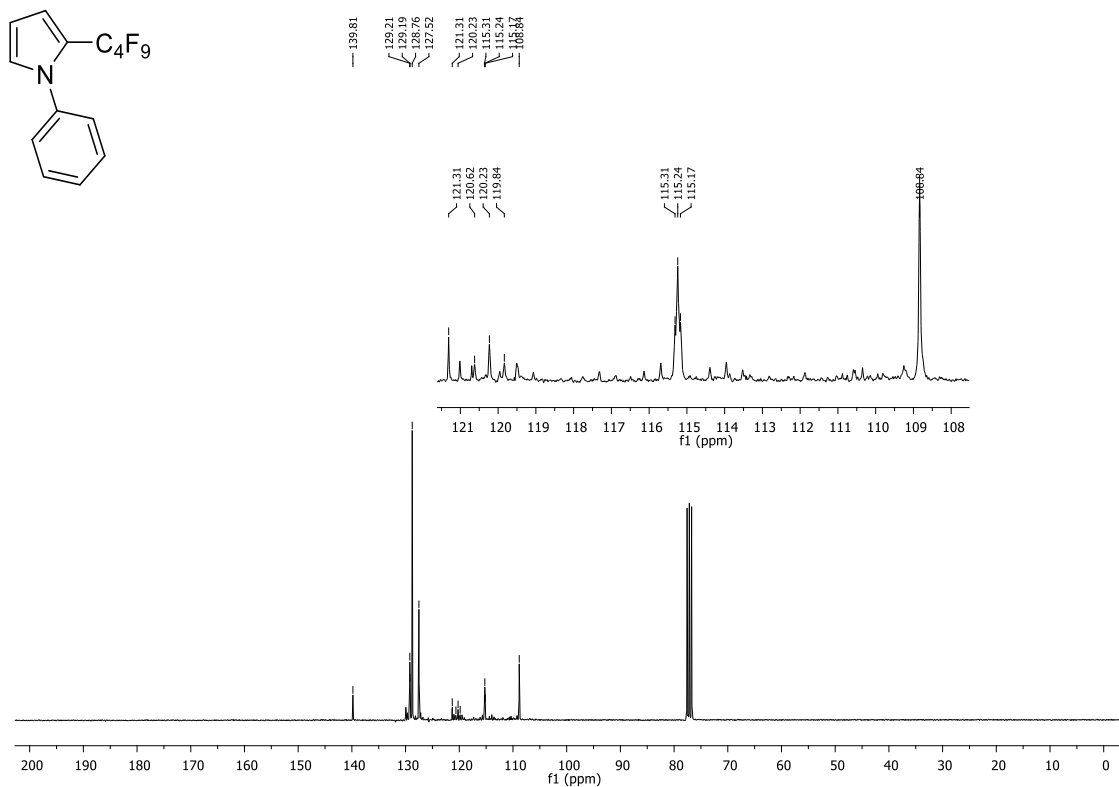
Espectro de RMN ^{13}C do composto **25d** em CDCl_3 a 75 MHz.



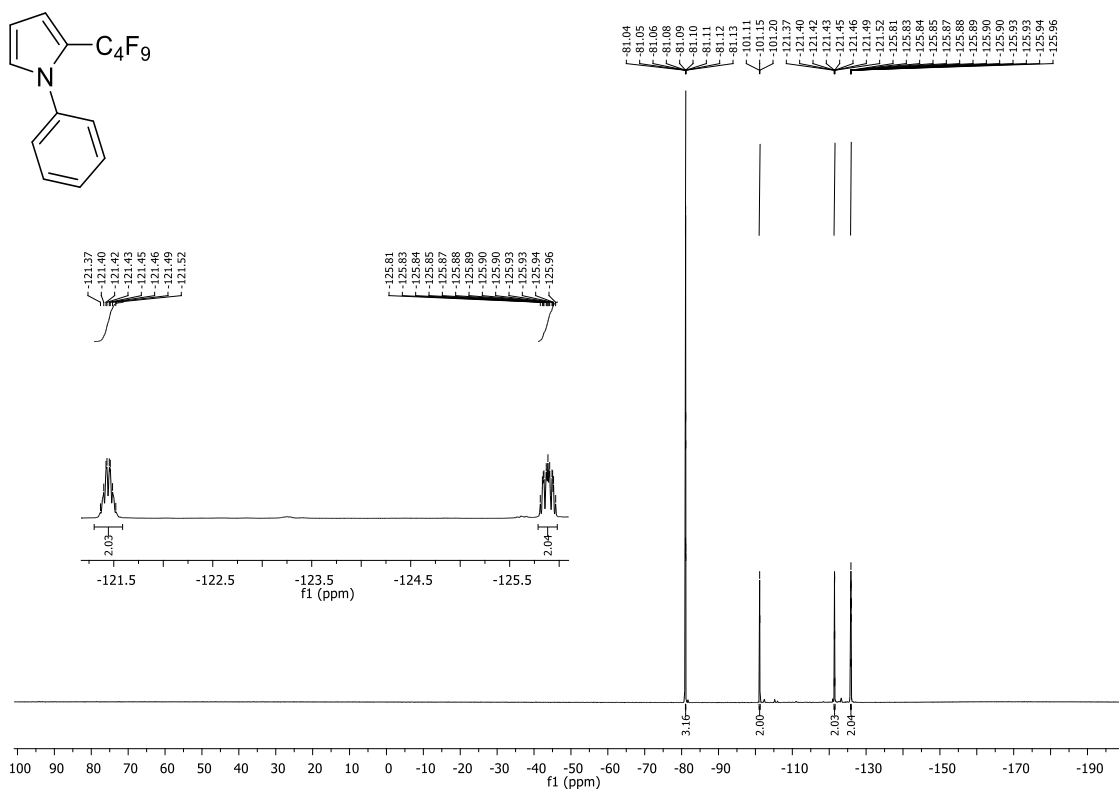
Espectro de RMN ^{19}F do composto **25d** em CDCl_3 a 282 MHz.



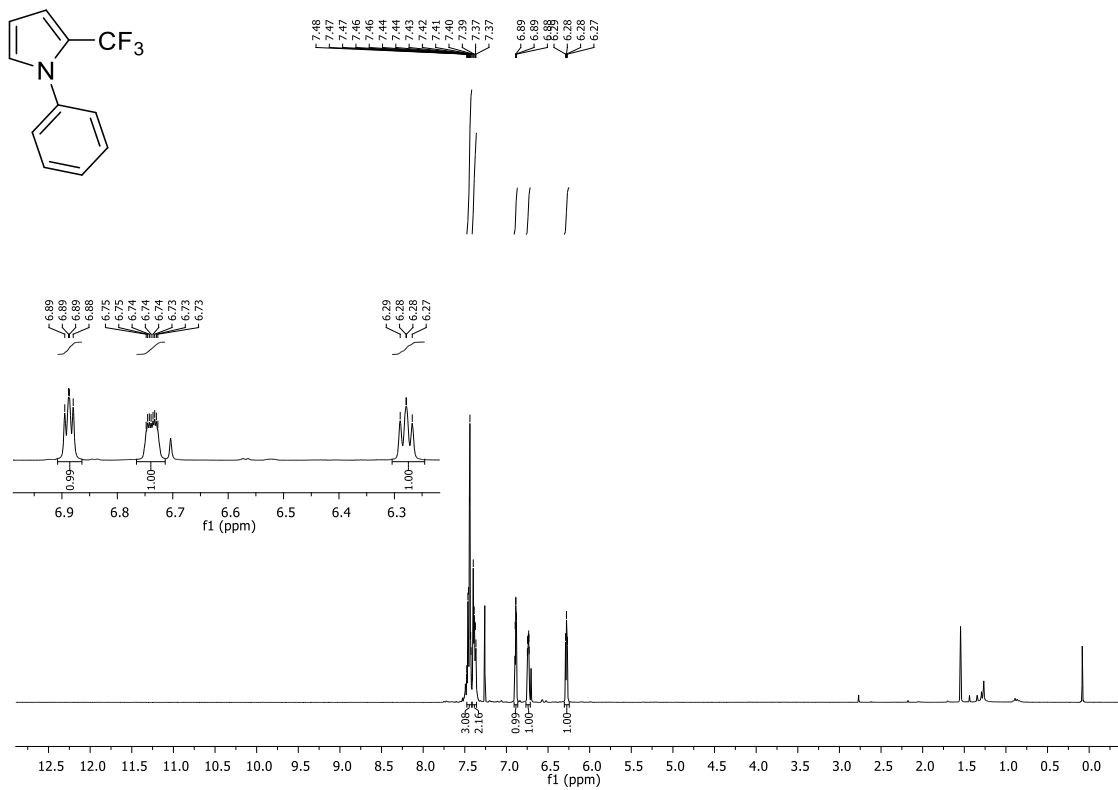
Espectro de RMN ^1H do composto **25e** em CDCl_3 a 300 MHz.



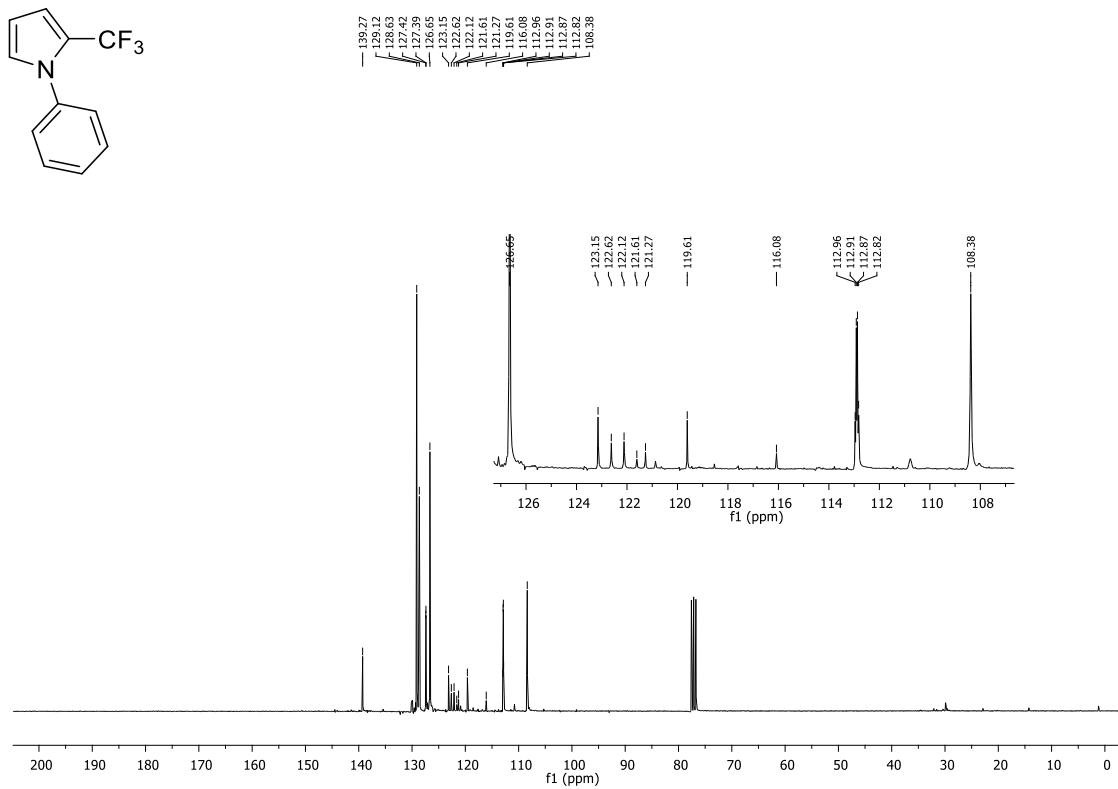
Espectro de RMN ^{13}C do composto **25e** em CDCl₃ a 75 MHz.



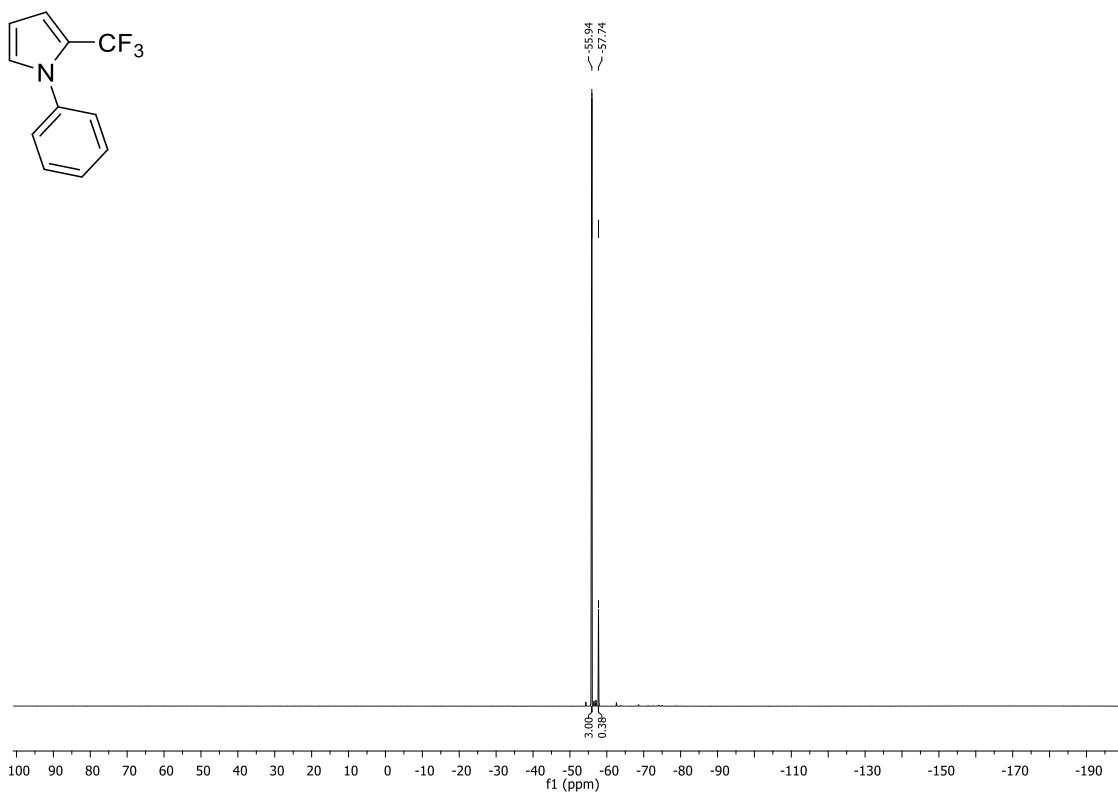
Espectro de RMN ^{19}F do composto **25e** em CDCl₃ a 282 MHz.



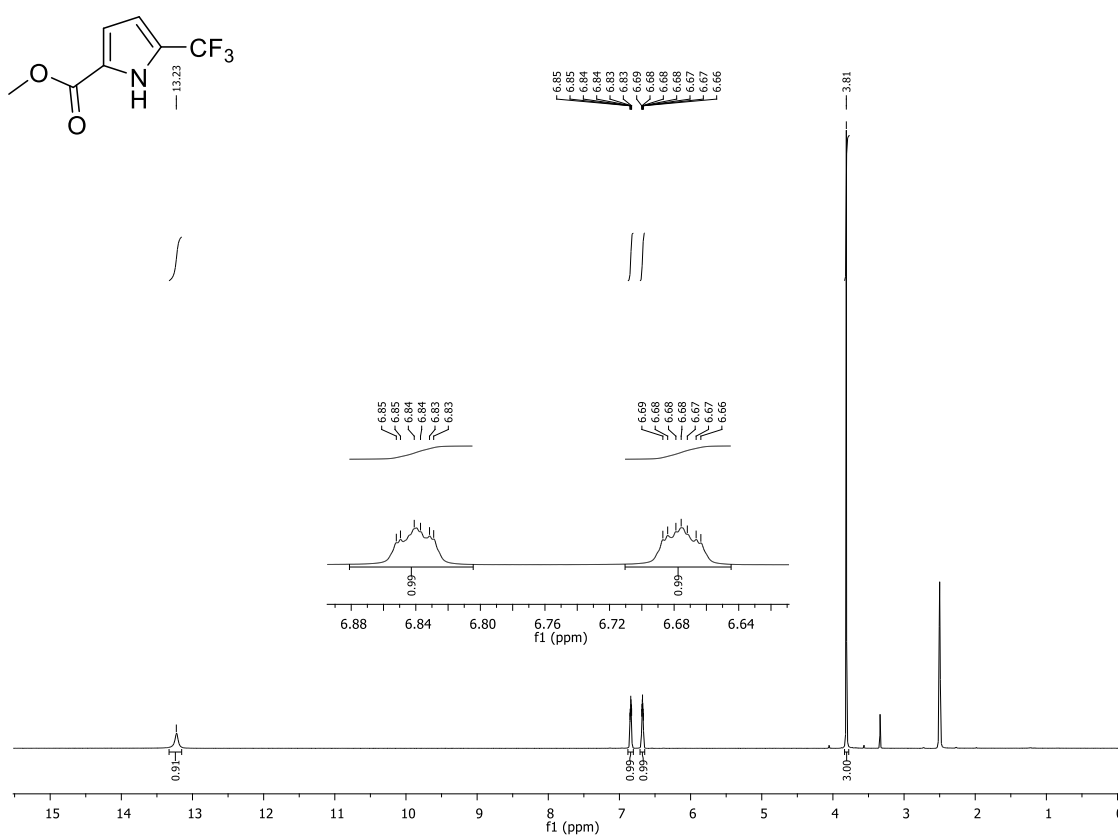
Espectro de RMN ^1H do composto **25f** em CDCl_3 a 300 MHz.



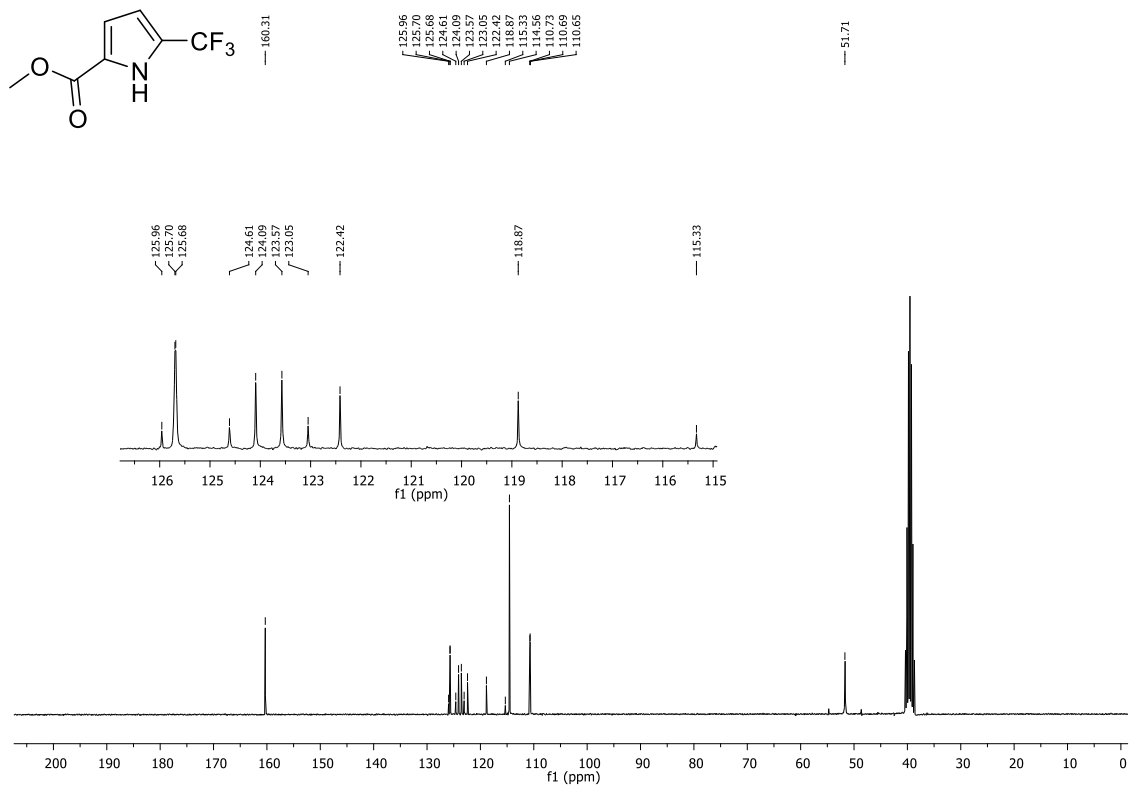
Espectro de RMN ^{13}C do composto **25f** em CDCl_3 a 75 MHz.



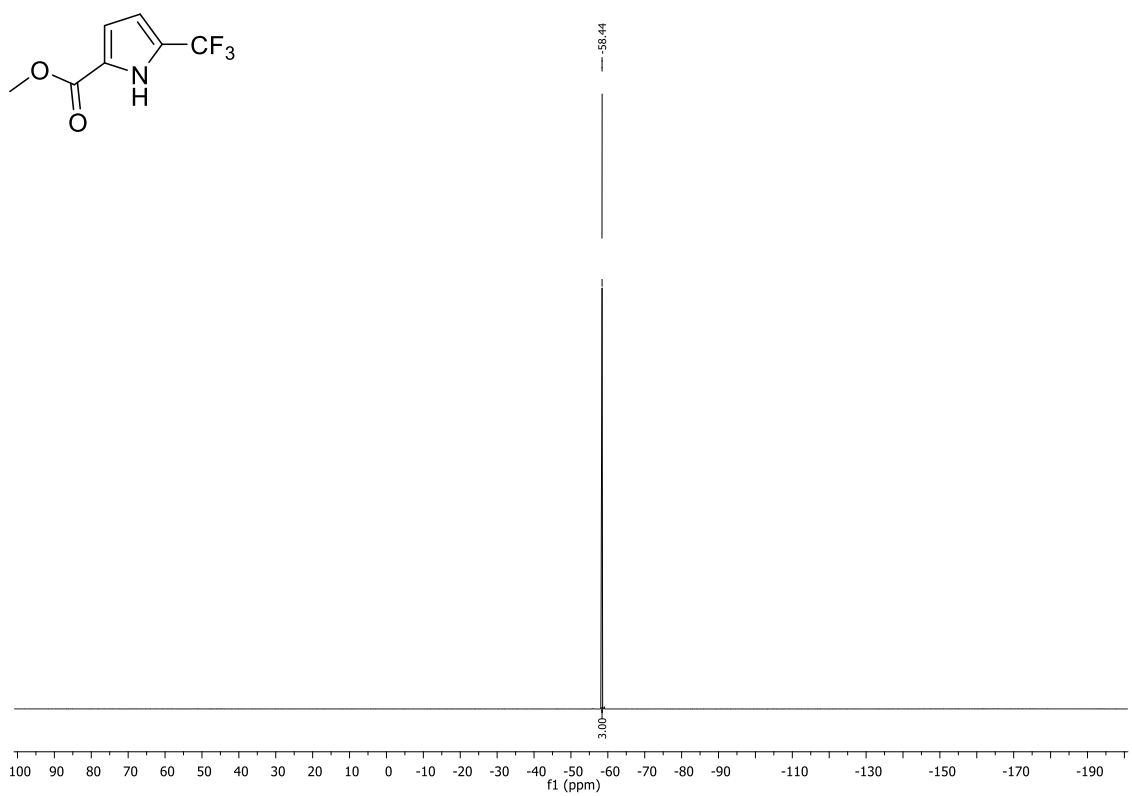
Espectro de RMN ^{19}F do composto **25f** em CDCl₃ a 282 MHz.



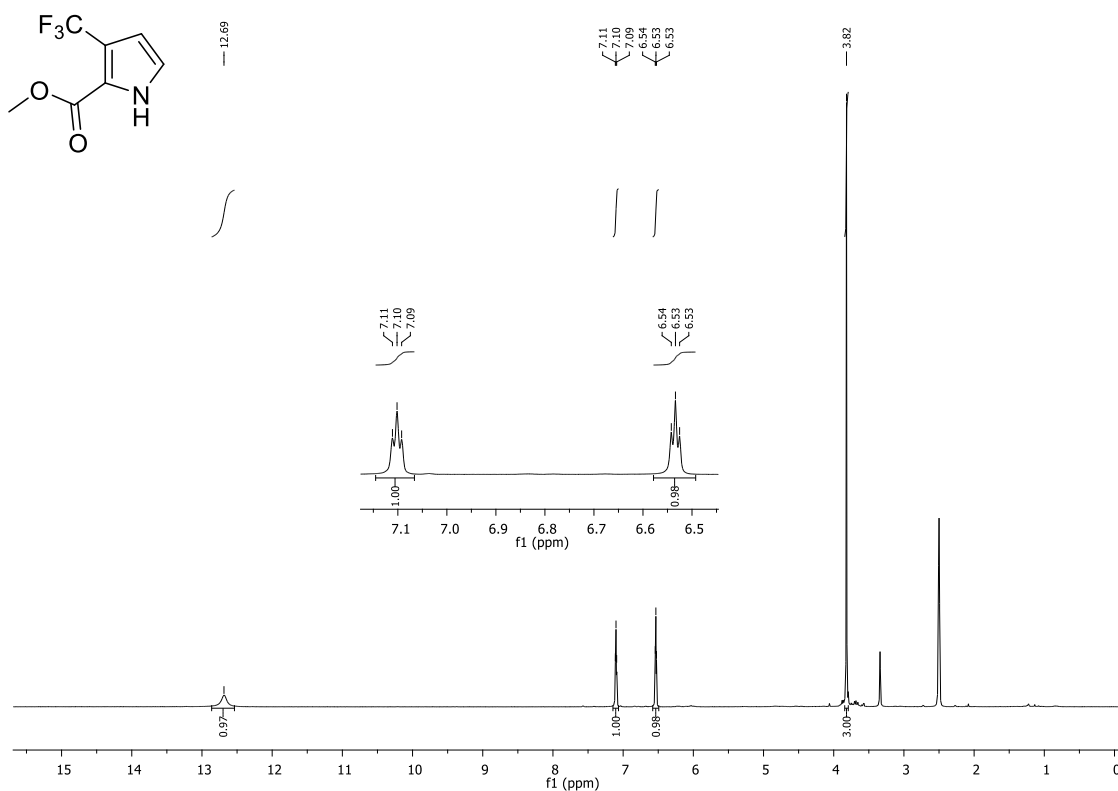
Espectro de RMN ^1H do composto **25ga** em CDCl₃ a 300 MHz.



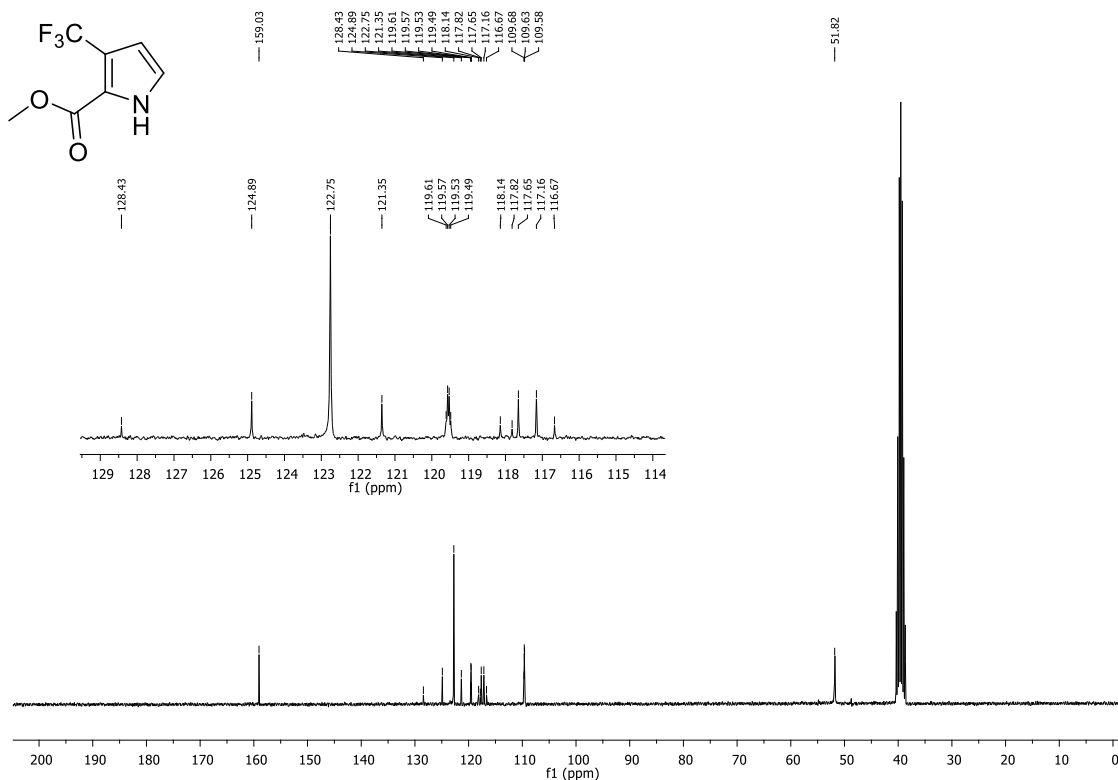
Espectro de RMN ¹³C do composto **25ga** em CDCl₃ a 75 MHz.



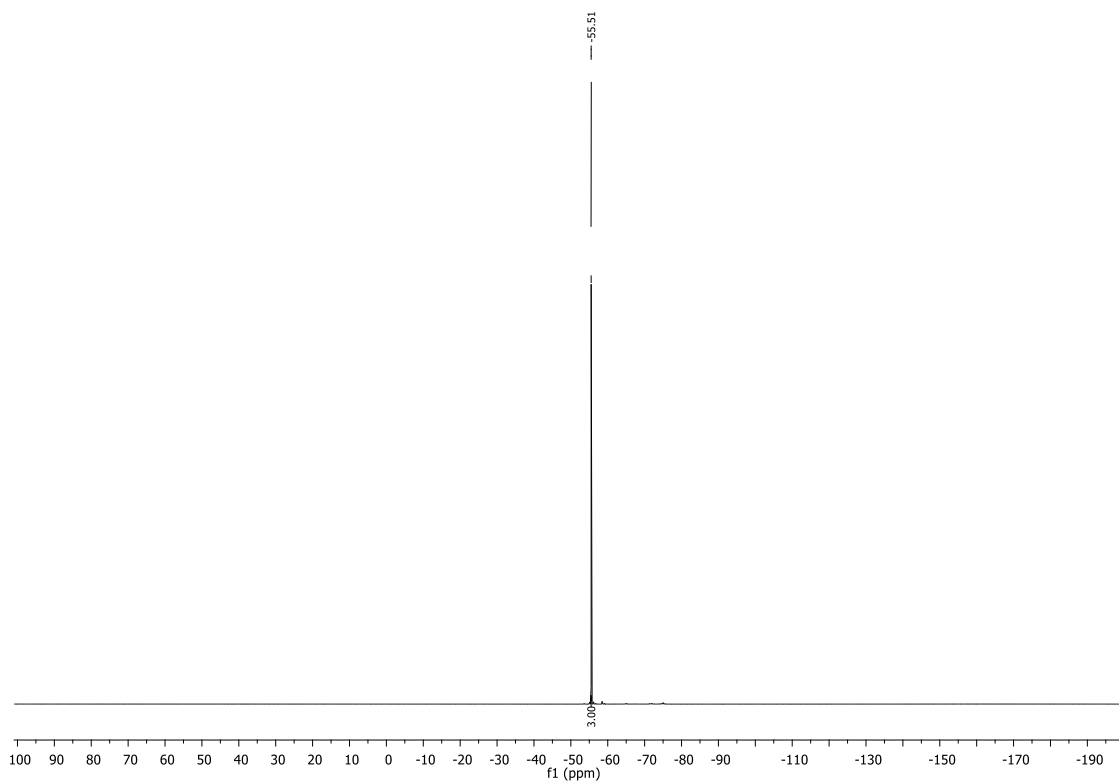
Espectro de RMN ¹⁹F do composto **25ga** em CDCl₃ a 282 MHz.



Espectro de RMN ¹H do composto **25gb** em CDCl₃ a 300 MHz.



Espectro de RMN ¹³C do composto **25gb** em CDCl₃ a 75 MHz.



Espectro de RMN ^{19}F do composto **25gb** em CDCl_3 a 282 MHz.